

Bioassayrespons en dan?

Welke stoffen veroorzaken de effecten?

Workshop Nieuwe Milieutechnieken 4 juni 2025
Corine Houtman

Het Waterlaboratorium

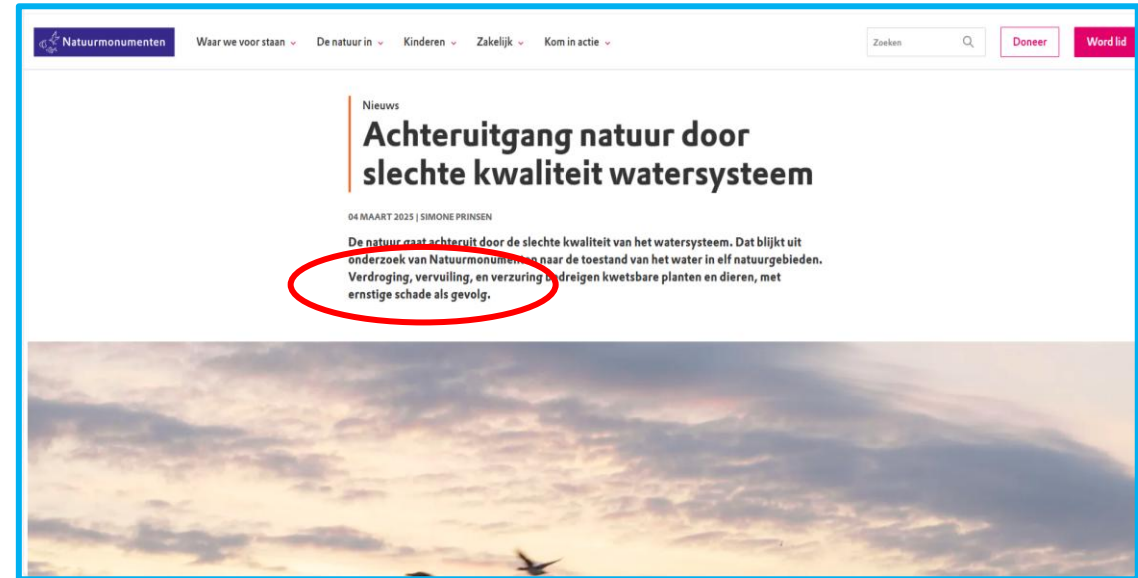


- Centraal laboratorium voor:
 - 3 Nederlandse drinkwaterbedrijven
 - Oppervlaktewater uit de Rijn, Maas en IJsselmeer voor de bereiding van drinkwater
- Monitoring & Onderzoek
- Aanwezigheid en toxicologie van **chemische stoffen** in de watercyclus
- Toxicoloog



Bron: Vewin

Is chemische waterkwaliteit zo belangrijk?

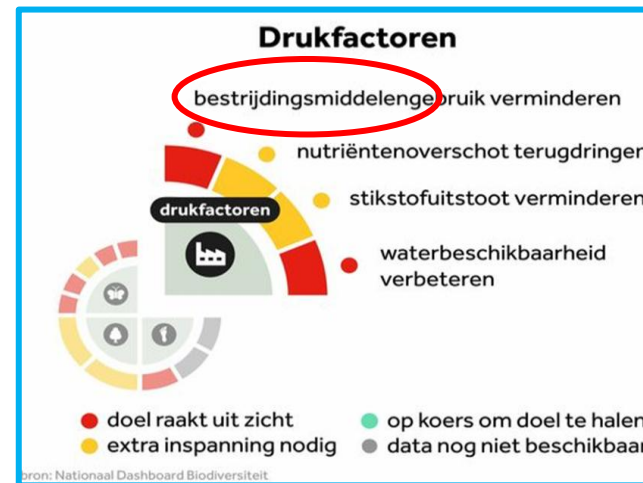


NOS Nieuws • Maandag 11 december 2023, 15:11

Onderzoek: een op de vijf zoetwatervissen met uitsterven bedreigd

Ruim 20 procent van de zoetwatervissen wordt met uitsterven bedreigd. Dat blijkt uit de nieuwe Rode Lijst van bedreigde diersoorten die de IUCN (Internationale Unie voor het Behoud van de Natuur) heeft gepresenteerd in Dubai.

Klimaatverandering is een belangrijk gevaar, naast andere bedreigingen als vervuiling, dammen en overbevissing. Op de lijst met bedreigde dieren staan nu bijna 100.000 soorten, waarvan er 44.000 met uitsterven worden bedreigd.



NOS Nieuws • Maandag 18 maart 2024, 10:12

Drinkwaterbedrijven tegen nieuw kabinet: help met aanpak watervervuiling

Waterschappen en drinkwaterbedrijven doen een dringend beroep aan een nieuw kabinet om de watervervuiling in Nederland aan te pakken. De organisaties worstelen met de hoeveelheid schadelijke stoffen in het water en willen dat er desnoods een wettelijk verbod komt op schadelijke stoffen, zo schrijven ze in een gezamenlijk pamflet.

De drinkwaterbedrijven noemen het een groot probleem dat er steeds meer schadelijke stoffen in het water zitten. Het gaat volgens voorzitter Pieter Litjens van Vewin, de vereniging van drinkwaterbedrijven, om onder meer nitraat uit de

Is chemische waterkwaliteit zo belangrijk?

Bekende vervuilende stoffen...

NOS Nieuws • Woensdag 15 mei 2024, 14:47

RIVM: waterkwaliteit én verbetermaatregelen onvoldoende

Op veel plekken in Nederland is de waterkwaliteit niet goed genoeg. Er gebeurt bovendien te weinig om de kwaliteit van het water te verbeteren. Daardoor staat de kwaliteit van drinkwater onder druk, concludeert het RIVM in een rapport.

Die conclusie is opvallend, omdat al jaren bekend is dat het niet goed gaat met de kwaliteit van het water. Onder andere vervuiling door de agrarische sector is een groot probleem. Er komen nog steeds te veel meststoffen en resten van bestrijdingsmiddelen in het grondwater en rivierwater terecht.



NOS Nieuws • Dinsdag 3 september 2024, 04:34

Waterbedrijven roepen Duitsland op om PFAS-lozingen in Rijn aan te pakken

En nog veel meer onbekende!



NOS Nieuws • Maandag 9 september 2024, 02:27 •
Aangepast maandag 9 september 2024, 08:48

Waterbedrijven: onbekend welke gifstoffen van industrie in de Maas worden geloosd

Is chemische waterkwaliteit zo belangrijk?

Bekende vervuilende stoffen...

RIVM: waterkwaliteit én verbetermaatregelen onvoldoende

Doelstoffenanalyses

- Vaste lijsten stoffen

- Concentraties

- Vergelijking met normen

Beperkte blik...

NOS Nieuws • Dinsdag 3 september 2024, 04:34

Waterbedrijven roepen Duitsland op om PFAS-lozingen in Rijn aan te pakken

En nog veel meer onbekende!

- Complexe mengsels!
- Interacties van stoffen mogelijk
- Hoe meet je iets onbekends?

Nieuwe technieken!

Waterbedrijven: onbekend welke gifstoffen van industrie in de Maas worden geloosd

- Bioassays
- Combinaties van complementaire technieken:
- Effect-Directed Analysis

Is chemische waterkwaliteit zo belangrijk?

Bekende vervuilende stoffen...

En nog veel meer onbekende!

RIVM: waterkwaliteit én verbod
onvoldoende

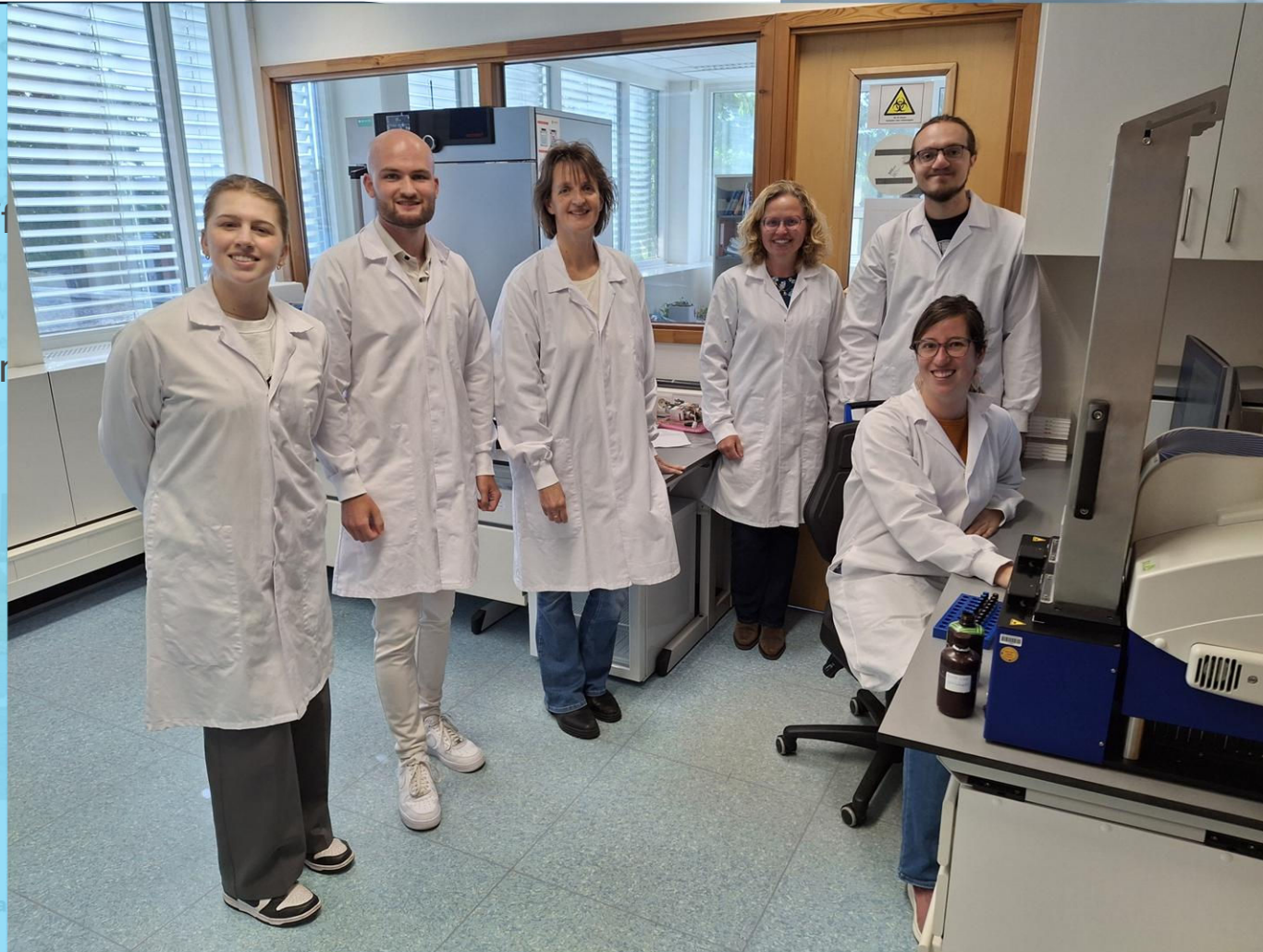
Doelstoffenanalyses

- Vaste lijsten stoffen
- Concentraties
- Vergelijking met r

Beperkte blik...

NOS Nieuws • Dinsdag 3 september 2024, 04:34

Waterbedrijven roepen Duitsland
lozingen in Rijn aan te pakken



Is!
stoffen mogelijk
onbekends?

stoffen van

complementaire

analysis



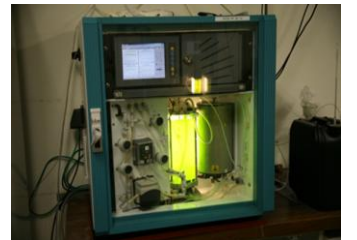
Bioassays

Bioassays

- biologische testsystemen
- om het effect van een stof (of mengsel) te bepalen
- ***Inclusief onbekende stoffen en mengselinteracties***

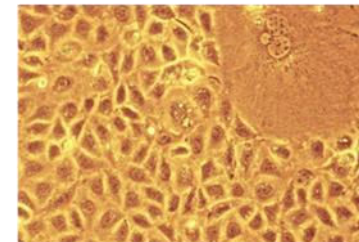
Op levende dieren of planten (in vivo):

- online monitoring bij innames
- B.v. vissen, watervlooien, algen



Op levende cellen of weefsels (in vitro):

- in het laboratorium: humane cellen, bacteriën
- voor algemene en specifieke effecten



Bioassays bij HWL



Hormoonverstoring

- **ER-CALUX & anti-ER**
- **AR-CALUX & anti-AR**
- **GR-CALUX**
- **PR-CALUX & anti-PR**
- **Schildklierhormoon transport**

Algemene toxiciteit

- **Cytotox-CALUX**
- **Microtox-assay**

Genotoxiciteit

- **P53-CALUX**
- **Ames test TA98, TA100, YG7108**
- **Luminescente Ames test**
- **Alle +/- S9**

Oxidatieve stress respons

- **Nrf2-CALUX**

Omzetting lichaamsvreemde stoffen

- **PAH-CALUX**
- **PXR-CALUX**

Selectie van de gevoeligste eindpunten voor de (chronische) gezondheid van de mens/milieu

Bioassays bij HWL



Sleutelfactor
Toxiciteit



Kennisimpuls
WATERKWALITEIT

Drinkwater	Oppervlaktewater	Afvalwater
Basis ✓ ✓	✓ ✓	✓ ✓
ERα CALUX ✓	ERα CALUX ✓	ERα CALUX ✓
Cytotox CALUX ✓	Cytotox CALUX ✓	Cytotox CALUX ✓
PAH CALUX ✓	PAH CALUX ✓	PAH CALUX ✓
Microtox* ✓	Microtox* ✓	Microtox* ✓
Nrf2 CALUX ✓	Nrf2 CALUX ✓	Nrf2 CALUX ✓
Ames test ✓	Algen inhibitie* ✓	Algen inhibitie* ✓
Extra in /bevest ✓ ✓	✓ ✓	✓ ✓
PXR CALUX ✓	PXR CALUX ✓	PXR CALUX ✓
Anti-AR CALUX ✓	Anti-AR CALUX ✓	Anti-AR CALUX ✓
	Daphnia immobilisatie* ✓	Daphnia immobilisatie* ✓
	PPARγ CALUX	PPARγ CALUX
		GR CALUX

Hormoon receptor-gemedieerde effecten, adaptieve stress respons, xenobiotisch metabolisme, apicale effecten.
* in vivo - - - - geen Effect Signaal Waarde (ESW) beschikbaar

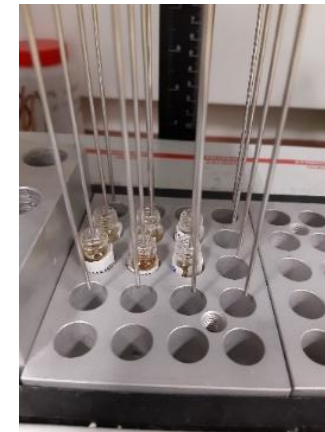


Rijkswaterstaat

Beoordeling vergaande zuivering RWZI-effluent

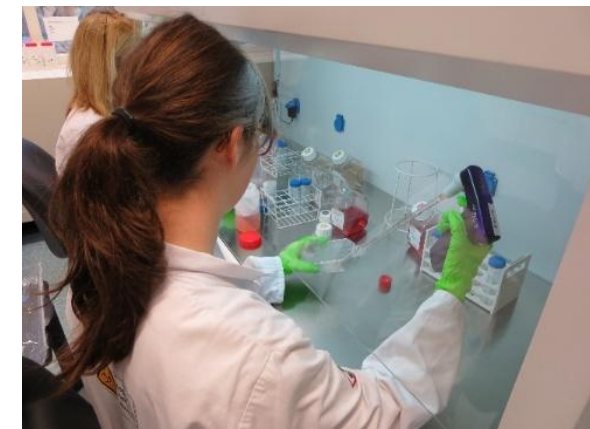
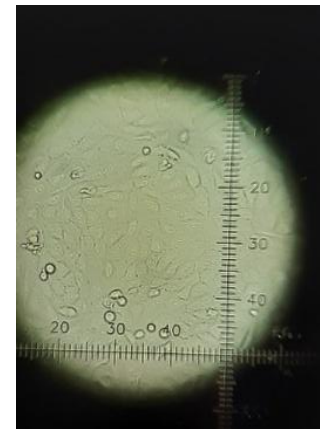
Voorbeeld: CALUX bioassays

Extractie
watermonsters



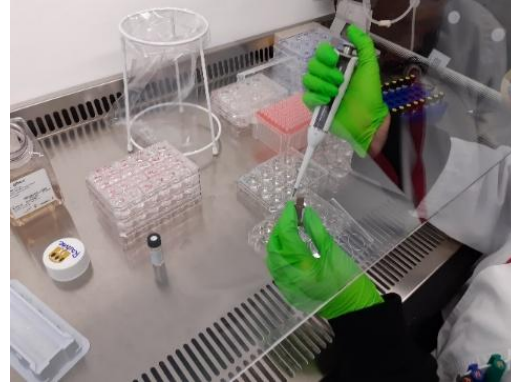
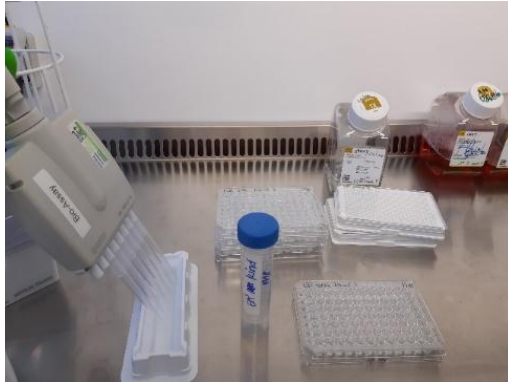
Cellweek

Het



Voorbeeld: CALUX bioassays

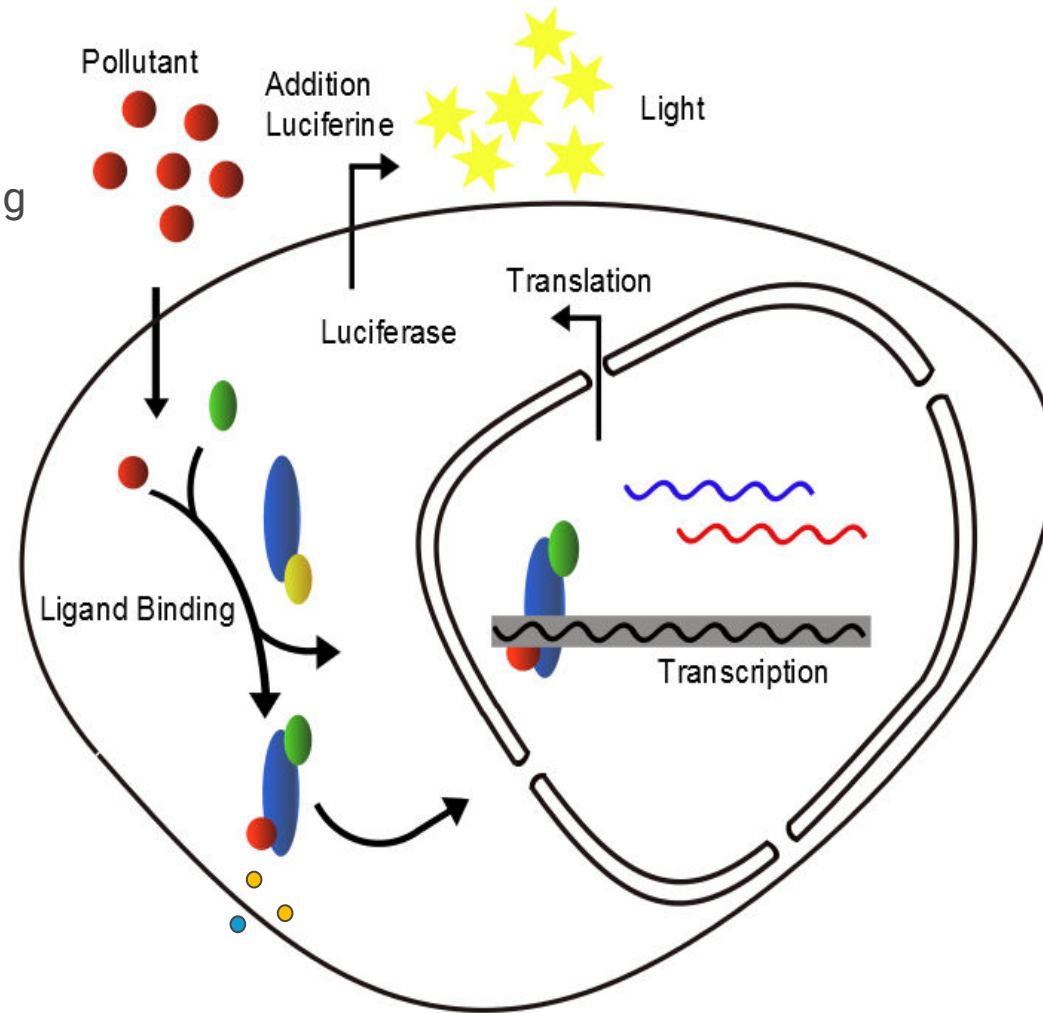
Cellen blootstellen aan
extracten



Lichtanalyse

Voorbeeld: CALUX bioassays

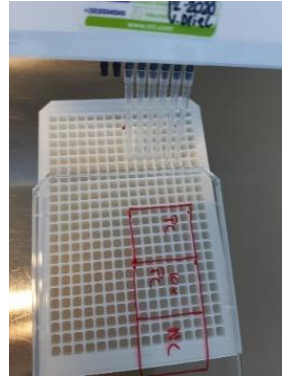
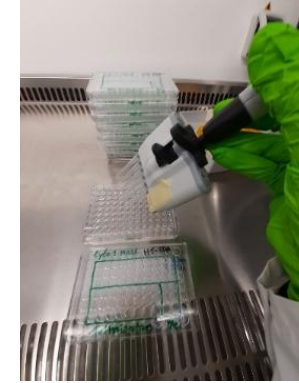
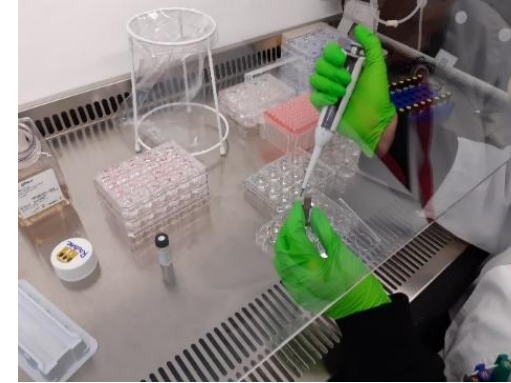
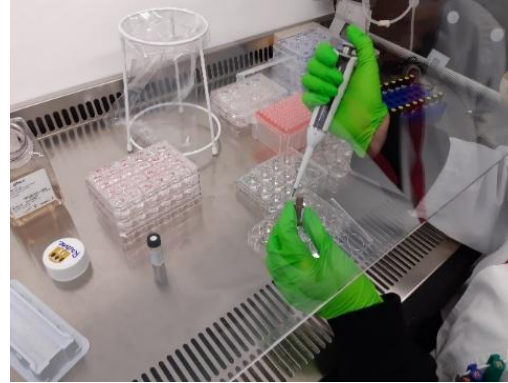
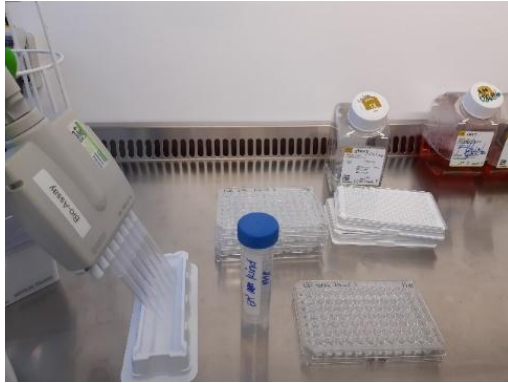
e.g. ER α -CALUX[®]:
hormoonverstoring



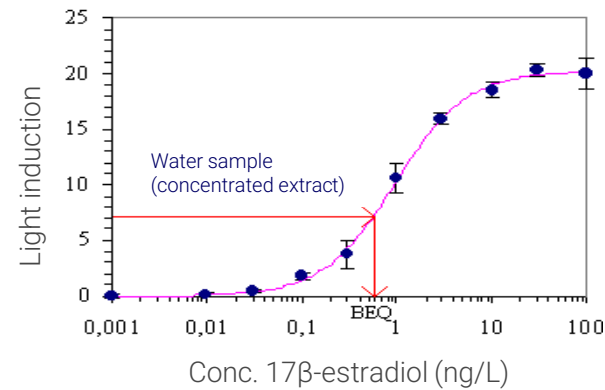
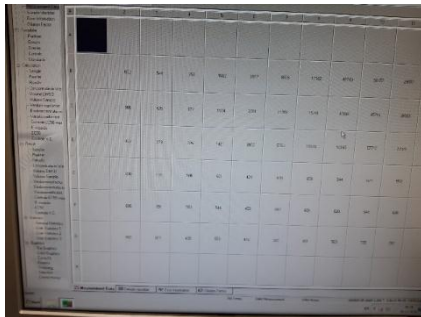
- Blootstelling aan waterextract
- Receptor-activering door specifieke groepen stoffen
- Lichtproductie

Voorbeeld: CALUX bioassays

Cellen blootstellen aan
extracten

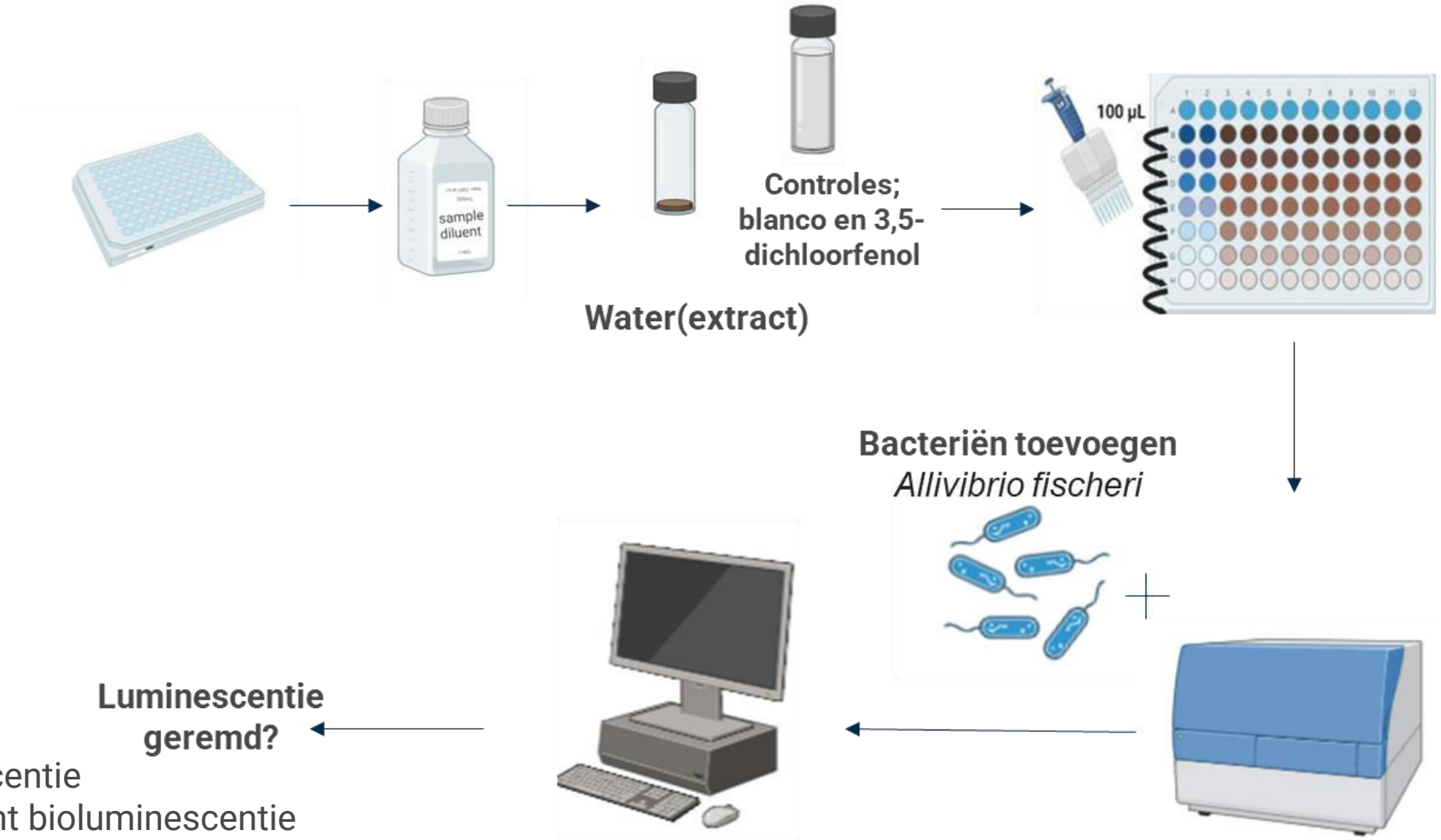


Lichtanalyse



- Activiteit uitgedrukt in equivalenten van de referentiestof
- Informatie over de aanwezigheid en activiteit, niet over de chemische identiteit van de actieve stoffen

Voorbeeld: Microtox bioassay (*Allivibrio fischeri*)



- Meet natuurlijke bioluminescentie
- Blootstelling aan stoffen remt bioluminescentie
- Algemene acute toxiciteit (apicaal)

Info over aanwezigheid, niet over de chemische identiteit van de actieve stoffen

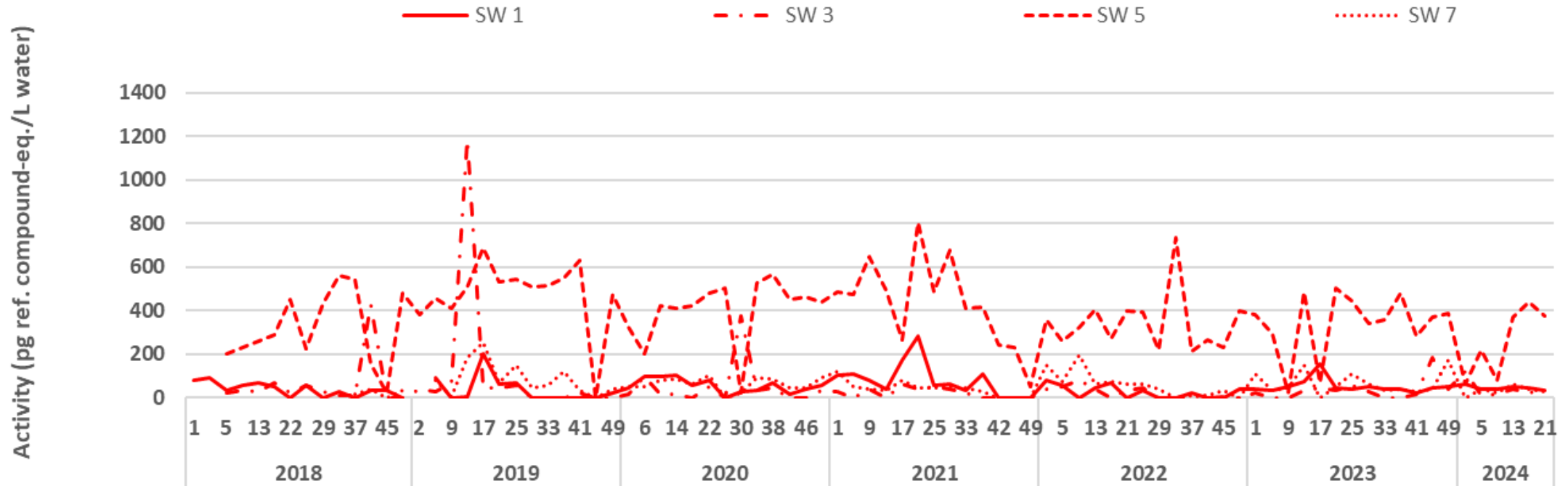


Bioassaytoepassingen

Toepassingen bioassays

- Monitoring waterkwaliteit
 - B.v. bronnen voor drinkwater (13x/j)
 - Drinkwater (4x/j)
 - Trends in de tijd

Estrogenic activity



Toepassingen bioassays

- Monitoring waterkwaliteit
 - B.v. bronnen voor drinkwater
 - Trends in de tijd

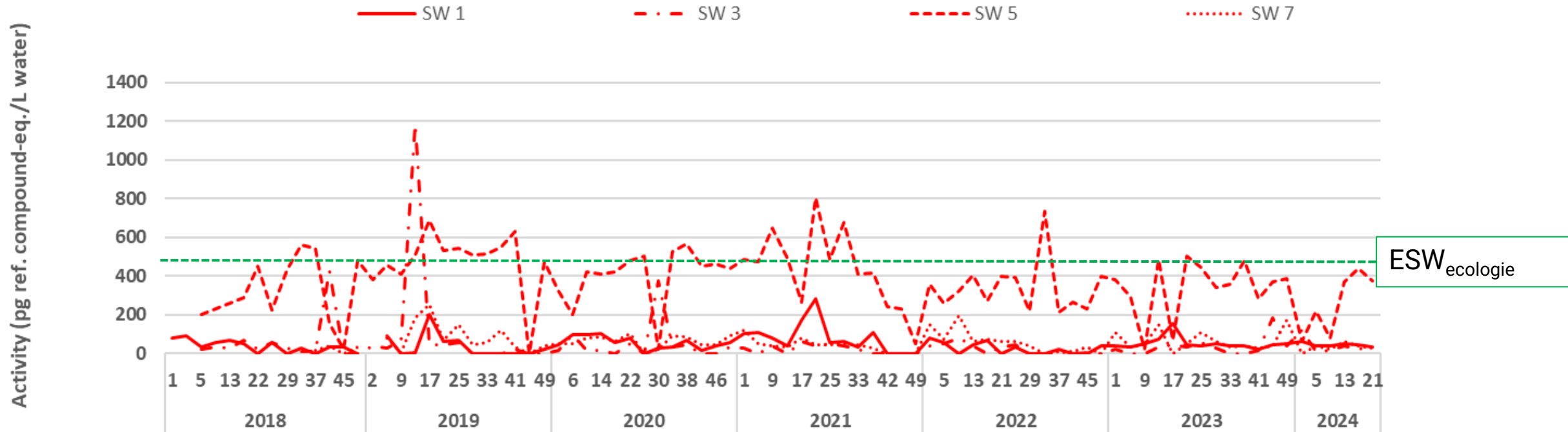
ESW: Effect-sigitaalwaarde (Engels: EBT)

- Concentratie < ESW => geen risico verwacht
- Concentratie > ESW => risico niet uit te sluiten => Verder onderzoek aanbevolen
- Aparte ESWs voor:
 - Ecologie => oppervlaktewater, RWZI-effluent
 - Humane gezondheid => drinkwater

Toepassingen bioassays

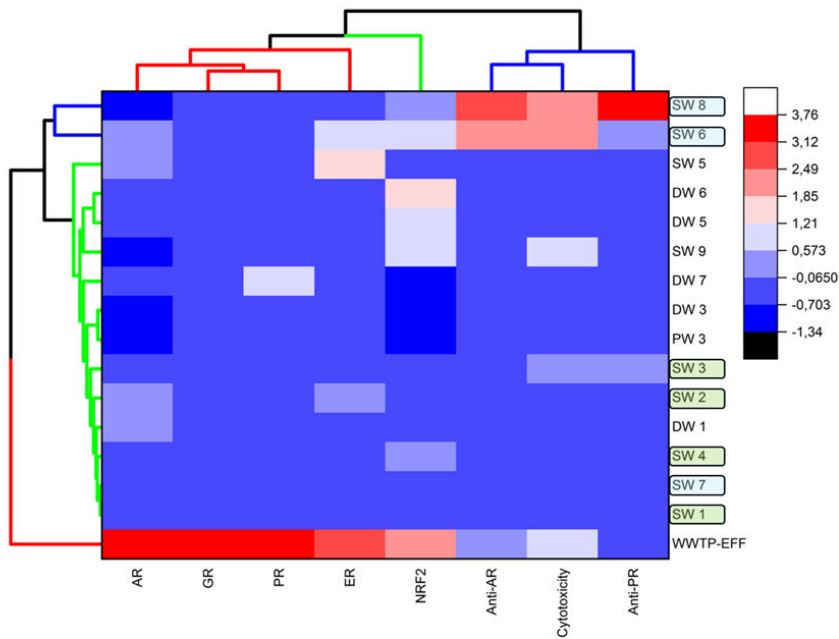
- Monitoring waterkwaliteit
 - B.v. bronnen voor drinkwater (13x/j)
 - Drinkwater (4x/j)
 - Trends in de tijd

Estrogenic activity

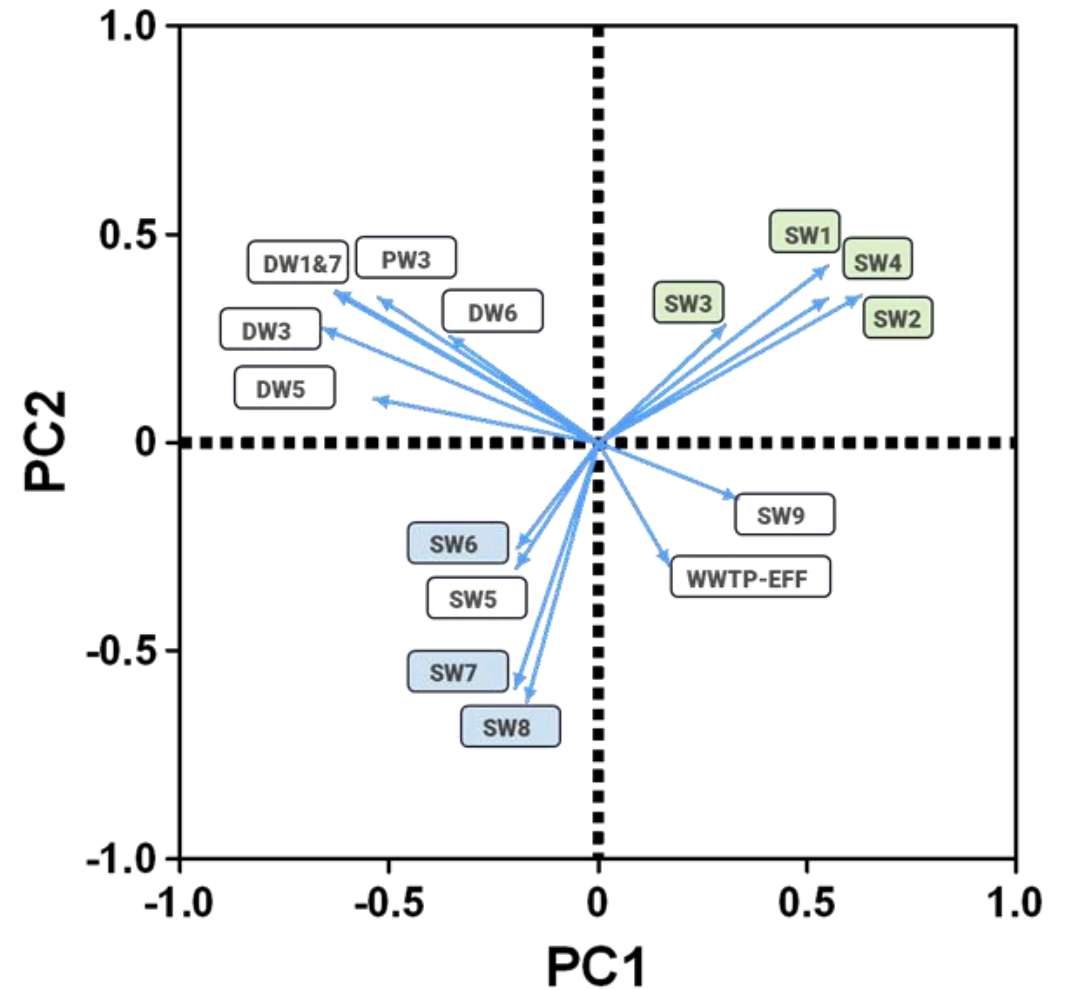


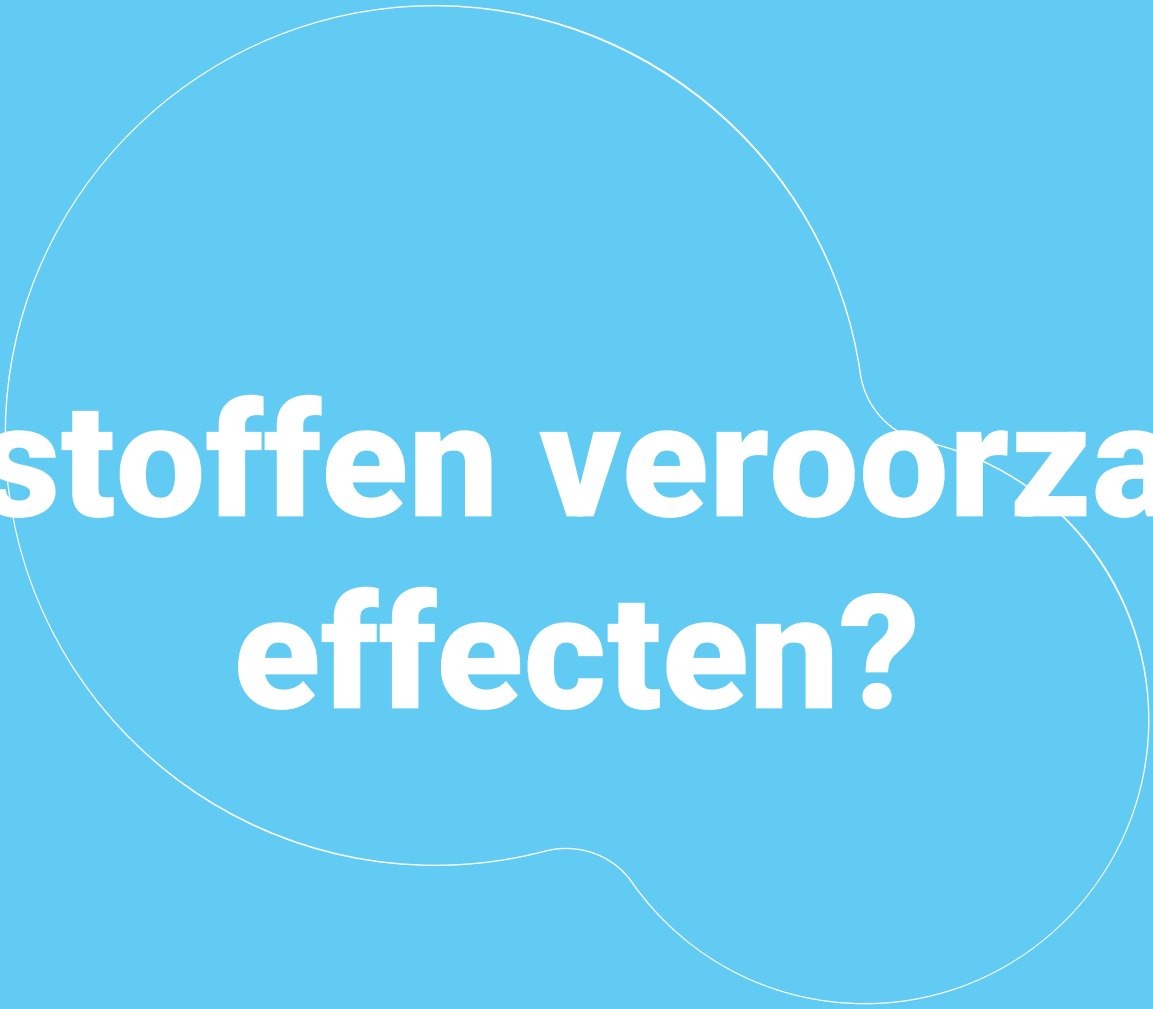
Toepassingen bioassays

- Data science
 - Correleren van bioassay- en andere WQ-meetgegevens
 - Patronen ontdekken (groen = Rijn, blauw = Maas)
 - Bronnen van verontreinigingen achterhalen



Loadings





**Welke stoffen veroorzaken de
effecten?**

Effect-directed Analysis: Identificatie van actieve stoffen

Concentratie > ESW=> verder onderzoek

HWL:

Herhaaldelijke overschrijdingen & onbekende oorzaak?

⇒ Karakteriseren / identificeren veroorzakende stoffen

Effect-directed Analysis (EDA):

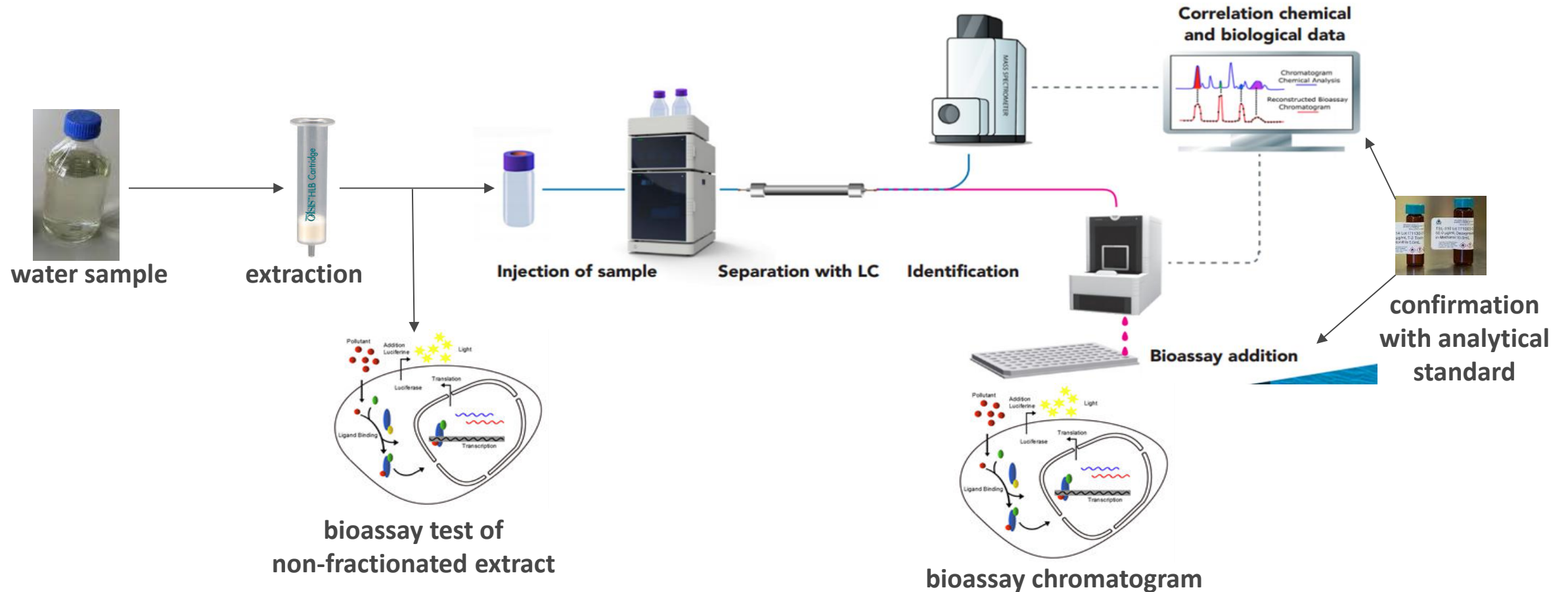
- Methode voor de identificatie van biologisch actieve stoffen
- Combinatie van bioassays en chemische technieken:
 - Bioassay
 - Chromatografische fractionering stoffen
 - Chemische identificatie in actieve fracties

Risicobeoordeling

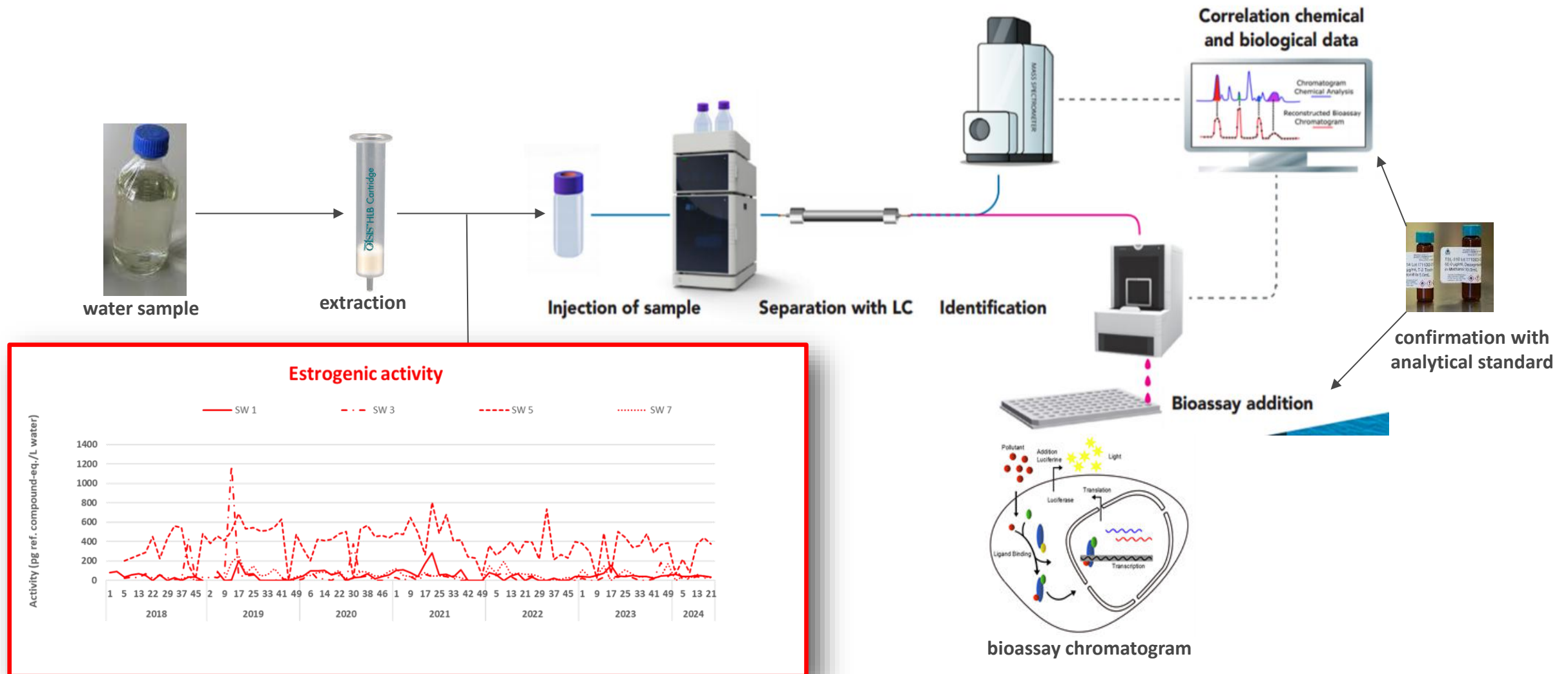
Maatregelen



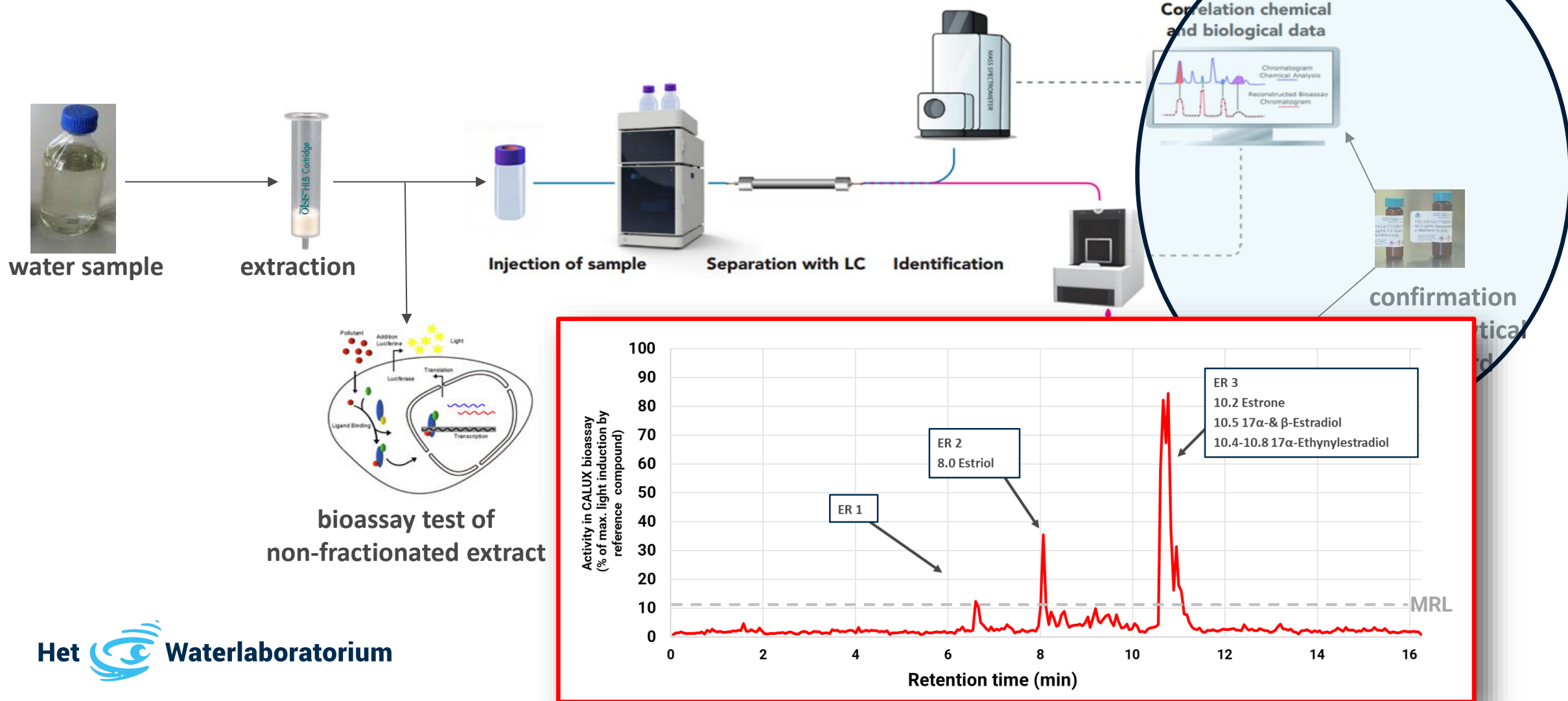
Effect-directed analysis



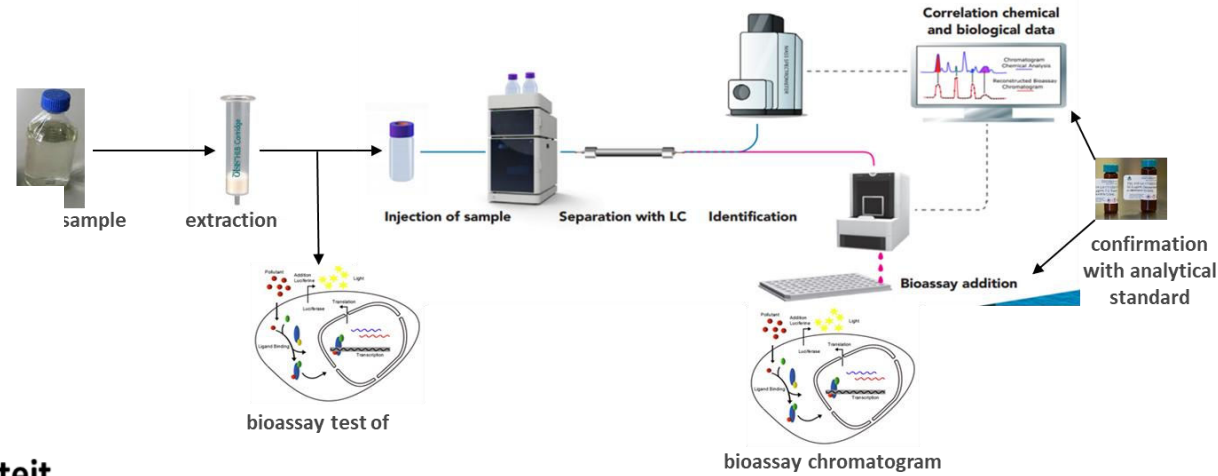
Effect-directed Analysis: Identificatie van actieve stoffen



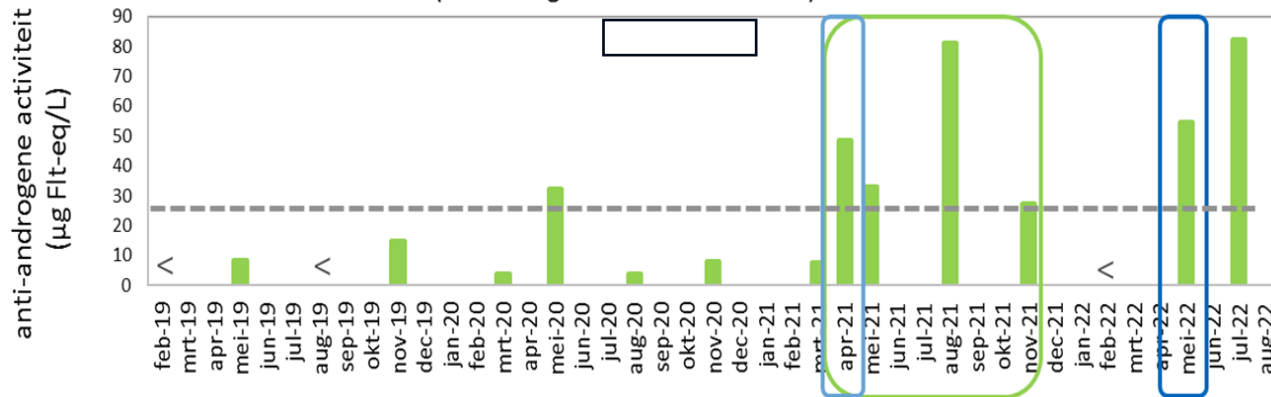
Effect-directed analysis



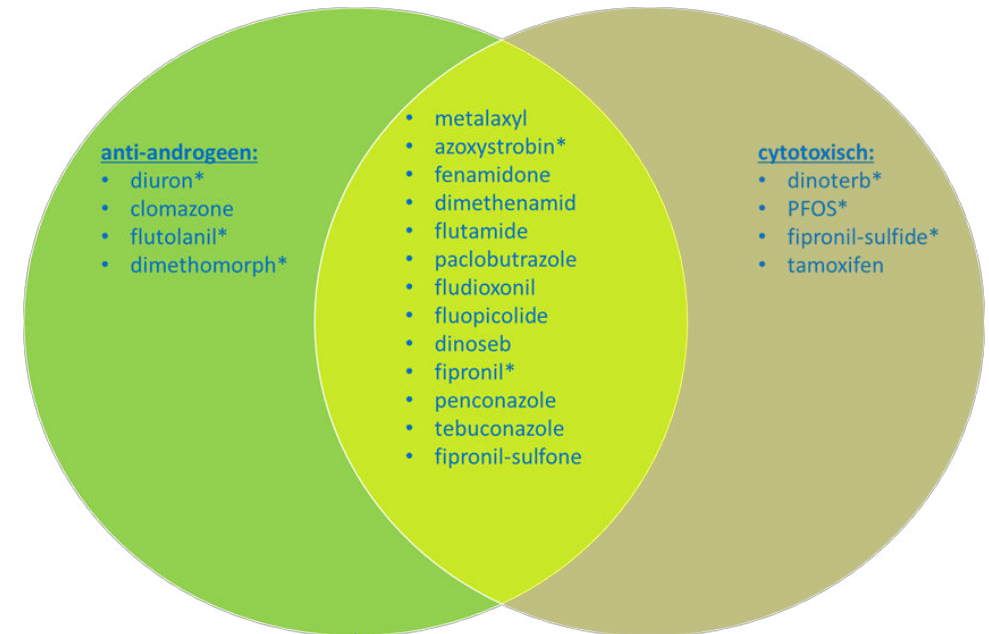
EDA anti-androgene activiteit in de anti-AR-CALUX



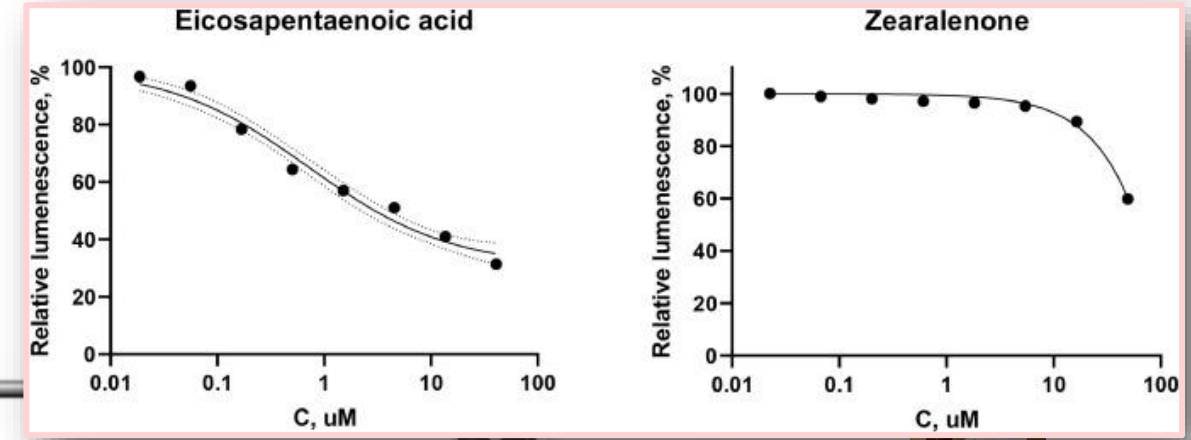
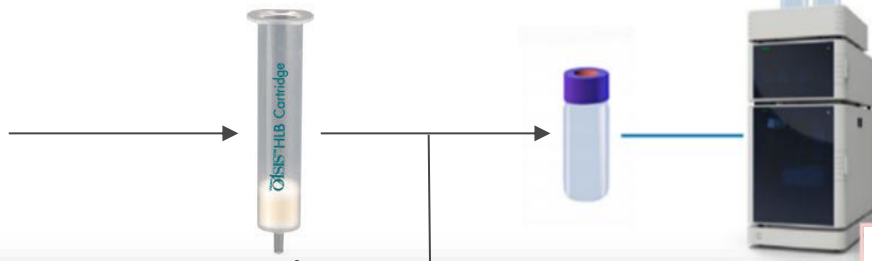
Anti-androgene activiteit
(totaal ongefractioneerde extract)



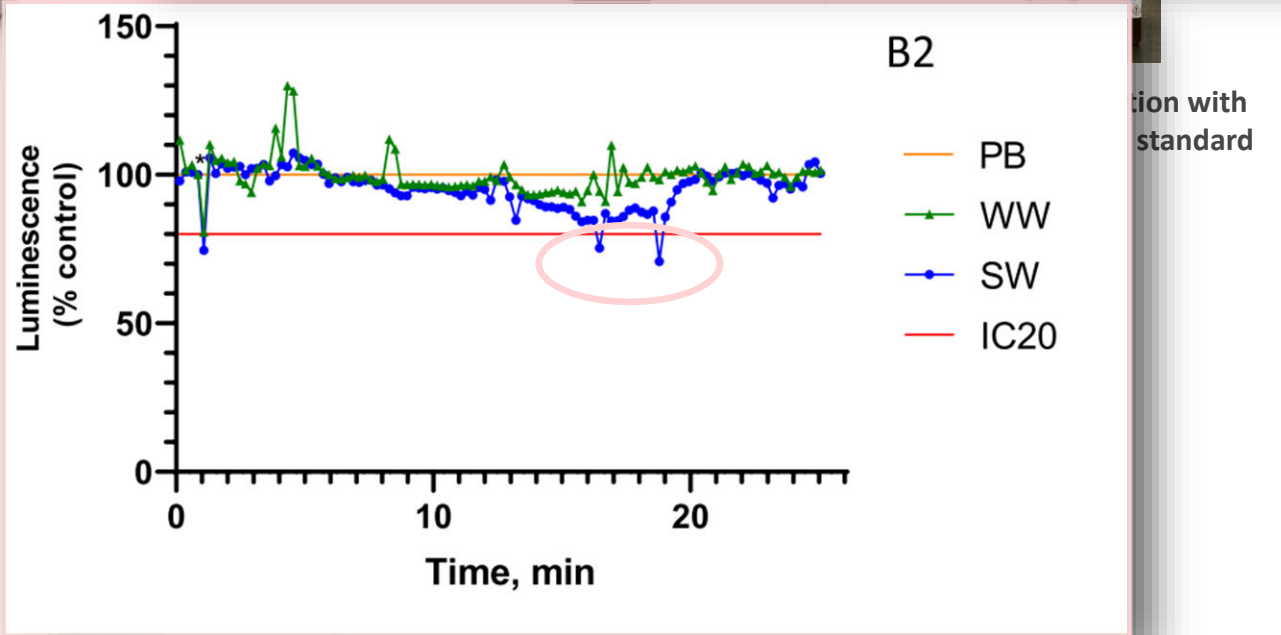
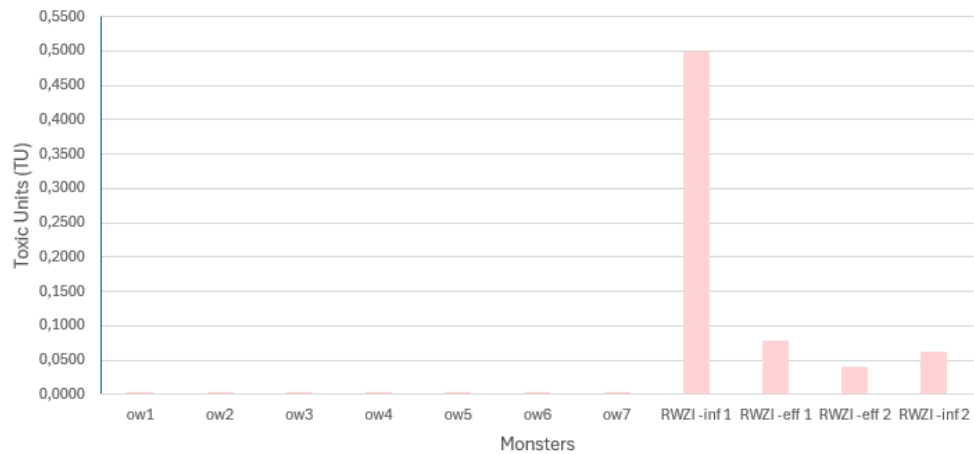
- Anti-androgene stoffen gevonden
- Veel pesticiden
- Opvallend: azole-fungiciden!



Effect Directed Analysis met Microtox



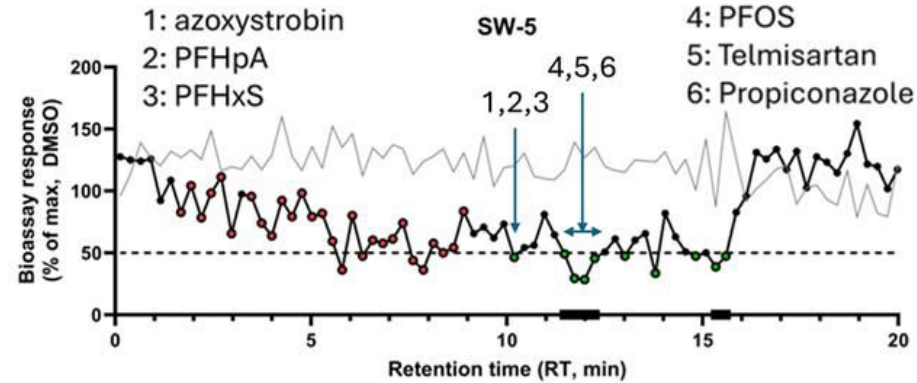
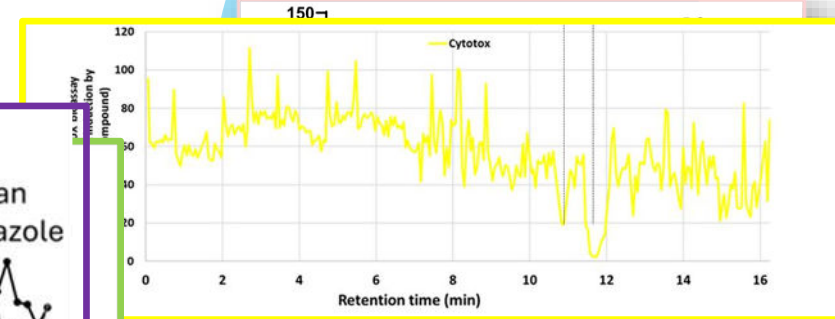
Microtox



EDA voor >10 bioassays

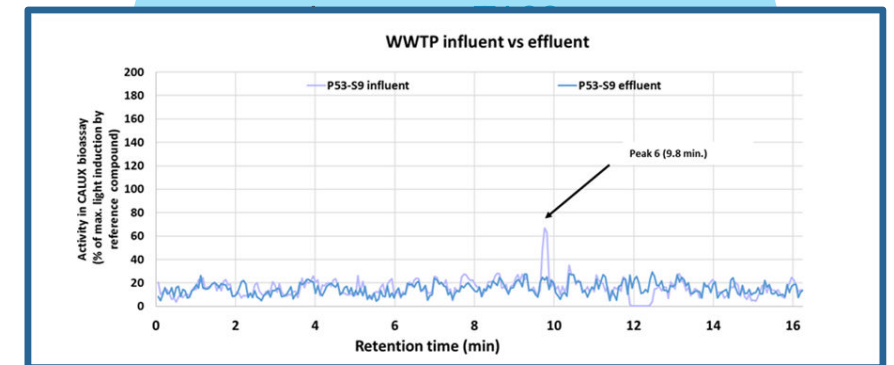


Algemene toxiciteit

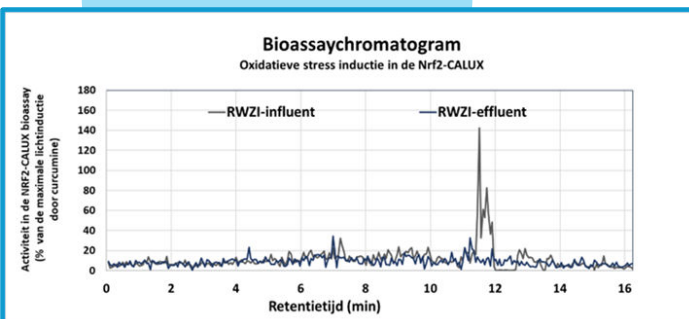


nototoxiciteit

• P53-CALUX

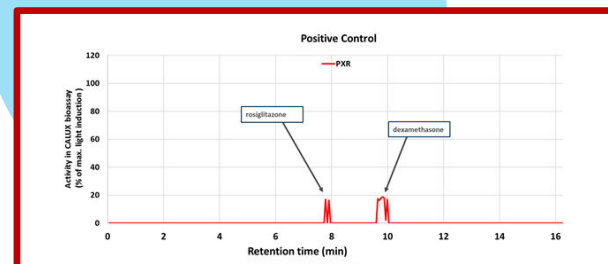


Adaptive stress respons



Houtman et al., H2O-online, 2024

Omzetting
lichaamsvreemde
stoffen





Conclusie

Bioassays:

Nieuwe milieutechnieken geven ons inzicht in onbekende stoffen

Panel assays voor gevoeligste eindpunten

Effect Directed Analysis:

Identiteit actieve stoffen nodig voor Risk Assessment

EDA achterhaalt deze

EDA-platform aan steeds meer bioassays gekoppeld

Veroorzakende stoffen steeds beter bekend



Dank voor jullie aandacht!

Het Waterlaboratorium

JW. Lucasweg 2

2031 BE Haarlem

023 – 517 5900

Corine.houtman@hetwaterlaboratorium.nl

