



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Resistente darmbacteriën bij open water zwemmers

RIVM Briefrapport 2019-0113
H. Blaak et al.



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Resistente darmbacteriën bij open water zwemmers

RIVM Briefrapport 2019-0113
H. Blaak et al.

Colofon

© RIVM 2019

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2019-0113

H. Blaak (auteur), RIVM
M.A. Kemper (auteur), RIVM
R. Pijnacker (auteur), RIVM
L. Mughini Gras (auteur), IRAS
A. M. de Roda Husman (auteur), RIVM
C. Schets (auteur), RIVM
H. Schmitt (auteur), RIVM

Contact:

Hetty Blaak

Z&O

hetty.blaak@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS).

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven

Nederland

www.rivm.nl

Publiekssamenvatting

Resistente darmbacteriën bij open water zwemmers

Mensen die regelmatig in open water zwemmen hebben vaker bacteriën in hun darmen die ongevoelig (resistent) zijn voor bepaalde soorten antibiotica dan de gemiddelde Nederlander. Daaruit maken wetenschappers op dat zwemmen in open water kans geeft om resistente bacteriën binnen te krijgen. Aandacht voor de kwaliteit van oppervlaktewater waarin gezwommen wordt, blijft daarmee belangrijk.

Dit blijkt uit onderzoek van het RIVM. Het RIVM adviseert daarom organisatoren van zwemwedstrijden om de kwaliteit van oppervlaktewater te onderzoeken. Daarnaast raadt het RIVM mensen aan om te zwemmen op officiële of andere goed onderzochte zwemlocaties. De kwaliteit van water van officiële locaties moet voldoen aan de Europese regels.

Wetenschappers onderzochten de ontlasting van deelnemers van open water zwemwedstrijden en city swims. Zij meten of er resistente bacteriën (de ESBL-producerende *E. coli*) in voor kwamen. Dit deden zij voor én na het evenement. Het aantal zwemmers bij wie dat het geval was, was voor en na het evenement gelijk, maar dus hoger dan bij de gemiddelde Nederlander. De kans is groot dat er geen verschil was tussen 'voor en na' het zwemevenement omdat deze mensen vaker in open water zwemmen. Zo kunnen zij vaker in contact komen met de bacteriën.

Mensen komen niet alleen via oppervlaktewater in aanraking met resistente bacteriën. Dit kan ook via andere mensen, via de omgeving, via contact met dieren of via het eten van (dierlijke) producten.

Kernwoorden: antibioticaresistentie, open water, oppervlaktewater, ESBL, zwemmen, zwemevenement

Synopsis

Resistant intestinal bacteria in open water swimmers

People who swim regularly in open water are more likely to carry intestinal bacteria that are resistant to certain types of antibiotics than the average Dutch person. This leads scientists to conclude that swimming in open water increases the chance of coming into contact with resistant bacteria. So it is important, to continue focusing on the quality of surface water in which people swim.

This was the conclusion of a study carried out by RIVM (National Institute for Public Health and the Environment). RIVM advises organisers of swimming competitions to test the quality of the surface water. In addition, RIVM advises people to swim at official swimming sites or other sites that have been adequately tested. The quality of water at official sites has to comply with European regulations.

Scientists analysed the stool of persons participating in open water swimming competitions and city swims. They tested whether resistant bacteria (the ESBL-producing *E. coli*) were present. They did so before and after the swimming event. The number of swimmers who tested positive for the presence of these bacteria was the same before and after the event but was higher than for the average Dutch population. The fact that there was no difference before and after the event is probably due to the fact that these people swim in open water quite frequently. This means that they come into contact with these bacteria more frequently.

People may also come into contact with resistant bacteria in other ways than via surface water. This can occur via other people, via the environment, via contact with animals, or by eating (animal) products.

Keywords: antibiotic resistance, open water, surface water, ESBL, swimming, swimming event

Inhoudsopgave

Samenvatting — 9

1 Inleiding — 11

- 1.1 Aanleiding — 11
- 1.2 Doel — 11
- 1.3 Aanpak — 11
- 1.4 Achtergrond — 12
 - 1.4.1 Klinische relevantie van ESBL-EC — 12
 - 1.4.2 Verspreiding van ESBL-EC — 13
 - 1.4.3 ESBL-EC in het milieu — 13
 - 1.4.4 Blootstelling aan ESBL-EC door zwemmen — 14

2 Methoden — 17

- 2.1 Selectie van zwemevenementen — 17
- 2.2 Werving — 17
- 2.3 Ontlastingsmonsters en enquête — 17
 - 2.3.1 Ontlastingsmonsters — 17
 - 2.3.2 Enquête — 18
- 2.4 Watermonsters — 18
- 2.5 Isolatie van ESBL-EC — 20
 - 2.5.1 Ontlasting — 20
 - 2.5.2 Water — 20
- 2.6 Karakteriseren van ESBL-EC — 21
- 2.7 Statistische analyses — 21
 - 2.7.1 ESBL-EC dragerschap in relatie tot deelname aan een zwemevenement — 21
 - 2.7.2 ESBL-EC dragerschap in relatie tot zwemgedrag in het algemeen en niet-zwemgerelateerde risicofactoren — 22
 - 2.7.3 ESBL-EC prevalentie bij zwemmers vergeleken met algemene bevolking — 22

3 Resultaten — 23

- 3.1 Deelnemers — 23
 - 3.1.1 Aanmeldingen — 23
 - 3.1.2 Compliance — 23
- 3.2 Algemene karakteristieken en zwemgedrag van deelnemers — 24
 - 3.2.1 Algemene karakteristieken — 24
 - 3.2.2 Algemeen zwemgedrag — 24
 - 3.2.3 Zwemgedrag tijdens zwemevenementen — 25
- 3.3 ESBL-EC dragerschap bij zwemmers — 25
 - 3.3.1 Dragerschap in relatie tot deelname aan zwemevenementen — 25
 - 3.3.2 Dragerschap in relatie tot zwemgedrag buiten de evenementen en overige risicofactoren — 26
- 3.4 ESBL-EC dragerschap in zwemmers vergeleken met de algemene bevolking — 27
- 3.5 Waterkwaliteit en prevalentie van ESBL-EC in evenementenwater — 28
- 3.6 Typen ESBL-EC bij zwemmers — 31

4 Discussie en conclusies — 35

5 Dankwoord — 41

6 Referenties — 43

7 Bijlagen — 49

7.1 Zwemevenementen — 49

7.2 Monsternameinstructies t.b.v. ontlastingsmonsters — 56

7.3 Vragenlijst — 57

7.4 Gebruikte primers voor moleculaire analyses — 64

7.5 Karakteristieken onderzoekspopulatie — 65

7.6 Univariate analyses — 67

Samenvatting

Achtergrond

'Extended spectrum beta-lactamase-producerende *E. coli*', of ESBL-EC, zijn *E. coli* die resistent zijn tegen een belangrijke groep van antibiotica, de beta-lactam antibiotica. Ze geven met name binnen zorginstellingen problemen, omdat infecties moeilijker te behandelen zijn dan infecties met niet-resistente *E. coli*. ESBL-EC komen overal voor, namelijk in mensen, in dieren en in het milieu. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat ze in het waterige milieu terecht komen via uitwerpselen van dieren en humaan afvalwater. Wat hiervan de gevolgen zijn voor de volksgezondheid is vooralsnog onduidelijk.

Doel van het onderzoek en aanpak

Het doel van dit onderzoek was om vast te stellen of zwemmen in open water een verhoogd risico geeft op dragerschap van ESBL-EC. Voor dit doel werden deelnemers geworven onder mensen die in 2017 en 2018 meededen aan zwemevenementen, waaronder city swims en open water zwemwedstrijden. Aan de deelnemers werd gevraagd een ontlastingsmonster op te sturen voor en na een bepaald evenement en een vragenlijst in te vullen. Met de vragenlijst werd informatie verzameld over zwemgedrag tijdens het betreffende evenement, zwemgedrag in het algemeen, en over andere, niet aan zwemmen gerelateerde risicofactoren voor blootstelling aan ESBL-EC. De aanwezigheid van ESBL-EC werd onderzocht in de ontlastingsmonsters en in het water waar de evenementen werden gehouden ("evenementenwater"). ESBL-EC dragerschap is onderzocht in relatie tot deelname aan een zwemevenement, in relatie tot algemeen open water zwemgedrag en overige risicofactoren, en in relatie tot dragerschap bij de algemene bevolking. Voor de vergelijking met de algemene bevolking zijn gegevens gebruikt uit een eerdere bevolkingsstudie ("ESBLAT").

Waterkwaliteit en voorkomen van ESBL-EC in evenementenwater

De microbiologische kwaliteit van de onderzochte evenementenwateren kwam in de meeste gevallen overeen met zwemwater van goede of uitstekende kwaliteit. Hoewel er een enkele keer *E. coli* concentraties werden gevonden die hoger waren dan de signaleringswaarde voor water op officiële zwemlocaties, was dit nooit het geval op de dag van een evenement. ESBL-EC werden in 74% van de monsters aangetroffen, met een geometrisch gemiddelde concentratie van 1,7 kve/100 ml (spreiding in positieve monsters: 0,2 – 80 kve/100 ml). De concentraties *E. coli* lagen gemiddeld 100 keer hoger ($1,9 \times 10^2$ kve/100 ml).

Prevalentie ESBL-EC bij zwemmers en risicofactoren voor ESBL-EC dragerschap

In totaal was 12% van alle ontlastingsmonsters (van voor en na evenementen gecombineerd) positief voor ESBL-EC. Na zwemevenementen waren zwemmers niet vaker ESBL-EC drager dan voor het evenement (respectievelijk 9,8% en 8,9%). Dit geeft aan dat deelname aan één zwemevenement niet tot een hogere dragerschap leidt. Echter, de meeste evenementzwemmers (88%) hadden in de 12

maanden voorafgaand aan het evenement vaker in open water gezwommen; bij 62% daarvan was dat vaker dan 5 keer. Onder de onderzochte zwemmers kwam ESBL-EC dragerschap significant vaker voor dan in de algemene bevolking (9,8 vs. 4,5%; gestandaardiseerde incidentie ratio: 2,2, 95% betrouwbaarheidsinterval: 1,4-3,2; $p=0,0001$). Dit was ook het geval wanneer gewogen werd voor verschillen tussen de studipopulatie in de huidige studie en de algemene bevolking (o.a. leeftijd en reishistorie). Naast zwemmen in open water waren andere risicofactoren voor ESBL-EC dragerschap onder zwemmers: reizen buiten de EU, beroepsmatig contact met patiënten en ziekenhuisopname. Er werd geen associatie gevonden tussen zwemgedrag (zoals frequentie, duur, type water) en dragerschap.

Conclusie

Zwemmen in open water is een risicofactor voor ESBL-EC dragerschap, naast reizen buiten de EU, beroepsmatig contact met patiënten en ziekenhuisopname.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Antibioticaresistentie bij bacteriën is een bedreiging voor de volksgezondheid. Mensen kunnen via verschillende routes antibioticaresistente (ABR) bacteriën oplopen, bijvoorbeeld door mens-mens contact (Dorado-Garcia et al. 2018, Haverkate et al. 2017) of contact met landbouwhuisdieren (Dierikx et al. 2013). Ook komen ABR bacteriën met afvalwater en mest in het waterige milieu terecht (Schmitt et al. 2017). Mensen kunnen aan deze bacteriën blootgesteld worden als zij in contact komen met oppervlaktewater, bijvoorbeeld door zwemmen in open water. Blootstelling kan leiden tot dragerschap van ABR bacteriën en eventueel tot een infectie, welke dan moeilijker te behandelen is. Draggers van ABR bacteriën kunnen deze ook verder verspreiden naar andere mensen, waaronder mensen die in bijzonder kwetsbaar zijn voor infecties, zoals ouderen en ziekenhuispatiënten. Vooralsnog is het onduidelijk hoe groot de bijdrage van blootstelling via het waterige milieu is aan dragerschap van ABR bacteriën ten opzichte van andere blootstellingsroutes, en wat de gevolgen daarvan zijn voor de volksgezondheid.

Het is van belang om te weten in welke mate het milieu bijdraagt aan de blootstelling van mensen aan ABR bacteriën en daaruit resulterende dragerschap, met het oog op maatregelen om de verspreiding van ABR naar mensen te verminderen.

1.2 Doel

Het doel van het huidige onderzoek was om vast te stellen of mensen die in open water zwemmen een verhoogde kans hebben om drager te zijn van de ABR darmbacterie "extended spectrum beta-lactamase-producerende *E. coli*" (ESBL-EC) (zie paragraaf 1.4.1).

1.3 Aanpak

In de ontlasting van mensen die meedoen aan zwemevenementen in open water is de aanwezigheid van ESBL-EC bepaald. ESBL-EC werden gekozen, omdat de behandeling van infecties met deze bacteriën kan leiden tot het gebruik van zogenaamde "laatste redmiddel-antibiotica", met een mogelijke toename van resistentie tegen laatste redmiddel-antibiotica tot gevolg (zie paragraaf 1.4.1). Daarnaast worden ESBL-EC zowel in mensen, in dieren alsook in het milieu aangetroffen (zie paragraaf 1.4.2 en 1.4.3).

In eerste instantie is gekozen voor deelnemers aan zogenaamde city swims. Deze zwemmers zijn te benaderen via de organisaties van deze evenementen en zwemmen op hetzelfde tijdstip in hetzelfde water, wat ze geschikt maakt om het effect van zwemmen op ESBL-EC dragerschap te onderzoeken. Verder werd verondersteld dat deelname aan city swims een "worst case scenario" vormt voor blootstelling via water. Tijdens deze evenementen worden namelijk doorgaans grotere afstanden afgelegd (één kilometer of meer) en de gebruikte wateren zijn doorgaans geen aangewezen zwemlocaties waar de waterkwaliteit moet

voldoen aan de eisen uit de Europese zwemwaterrichtlijn, waardoor de microbiologische waterkwaliteit niet gegarandeerd is. Voor de aanvang van het onderzoek werd daarom verondersteld dat city swim water in het algemeen van slechtere kwaliteit is dan water op officiële zwemlocaties.

Het onderzoek is uitgevoerd tijdens twee zwemseizoenen (mei t/m september): in 2017 en 2018. Voor het werven van zwemmers zijn evenementorganisaties benaderd met de vraag of zij hun deelnemers van het onderzoek op de hoogte wilden stellen. In 2017 zijn alleen deelnemers van city swims benaderd. In 2018 zijn, om de onderzoekspopulatie te vergroten, ook deelnemers van zwemwedstrijden in open water benaderd. Daarnaast is de algemene bevolking geïnformeerd over het onderzoek via sociale media, met als doel ook op deze wijze evenementzwemmers te bereiken. De onderzochte populatie bestaat daarmee zowel uit recreatieve als sportieve zwemmers. Openwater zwemwedstrijden worden net als city swims doorgaans niet op officiële zwemlocaties georganiseerd.

Deelnemers werd gevraagd om voor en na het zwemevenement een ontlastingsmonster in te sturen. Deze monsters werden onderzocht op de aanwezigheid van ESBL-EC. Daarnaast werd de deelnemers gevraagd een vragenlijst in te vullen om inzicht te krijgen in blootstelling tijdens het evenement (zoals zwemslag, duur, afstand, water binnengekomen), het open water zwemgedrag buiten het betreffende evenement om (bijvoorbeeld hoe vaak, wat voor water) en over eventuele andere routes van blootstelling aan ESBL-EC (zoals reizen, het houden van dieren, antibioticagebruik, ziekenhuisopname). Er is onderzocht of zwemmers vaker ESBL-EC drager waren na het evenement dan daarvoor, maar ook of dragerschap onder deze studiepoulatie meer voorkwam dan in de algemene bevolking. Voor gegevens over ESBL-EC dragerschap in de algemene bevolking is gebruikt gemaakt van een eerdere bevolkingsstudie naar ESBL-EC (ESBLAT 2018).

Tenslotte werd een deel van de wateren waarin evenementen werden georganiseerd onderzocht op de aanwezigheid van en de aantallen ESBL-EC.

1.4 Achtergrond

1.4.1 *Klinische relevantie van ESBL-EC*

ESBL-producerende bacteriën hebben zich over de hele wereld verspreid (Bevan et al. 2017, Cantón et al. 2008, Castanheira et al. 2008). Door de productie van het eiwit "ESBL" worden bacteriën resistent tegen een breed spectrum van beta-lactam antibiotica, waaronder penicillinen, tweede en derde generatie cefalosporinen en mono-bactams. De groep van beta-lactam antibiotica is een van de belangrijkste antibiotica-groepen in de humane gezondheidszorg. Mede omdat ESBL-producerende bacteriën vaak ook resistentie hebben ontwikkeld tegen andere groepen antibiotica naast beta-lactams, zijn infecties (urine-, maag-darmkanaal- en bloedinfecties) met ESBL-producerende bacteriën vaak moeilijk(er) te behandelen. De toename in infecties veroorzaakt door ESBL-producerende bacteriën heeft geleid tot een toename in het gebruik van zogenaamde "laatste redmiddel" antibiotica, zoals

carbapenems (Cantón et al. 2012). Laatste redmiddel antibiotica worden alleen gebruikt als laatste keus; indien er resistentie tegen ontstaat, zijn er nauwelijks nog behandelingsmogelijkheden.

ESBL-productie komt vooral voor bij *Enterobacteriaceae*, met name bij *Escherichia coli* en *Klebsiella pneumoniae*. In eerste instantie werd ESBL-productie met name gevonden bij *K. pneumoniae* en geassocieerd met ziekenhuisinfecties (nosocomiale infecties). Vanaf het einde van de jaren 90 van de vorige eeuw werden ze steeds vaker bij *E. coli* gevonden en ook vaker bij infecties buiten de ziekenhuisomgeving (niet-nosocomiale infecties) (Livermore et al. 2007, Paterson and Bonomo 2005). Daarnaast komen ESBL-EC ook voor bij gezonde mensen: ongeveer 5% van alle Nederlanders is drager van ESBL-EC (ESBLAT 2018, Huijbers et al. 2013, van den Bunt et al. 2017), en bij landbouwhuisdieren, met name bij kippen, varkens en vleeskalveren (MARAN 2018).

1.4.2 *Verspreiding van ESBL-EC*

E. coli is een relatief onschuldige bacterie die van nature voorkomt in de darmen van alle mensen en zoogdieren: het is een zogenaamde 'commensale' darmbacterie. Normaal gesproken veroorzaakt *E. coli* geen ziekte bij gezonde mensen, maar kan in mensen met verminderde weerstand, zoals ouderen en ziekenhuispatiënten, wel ziekte veroorzaken. Met name als de bacterie op een andere plek dan de darmen terecht komt, zoals in de urinewegen, kan hij ziekte veroorzaken. *E. coli* is een van de belangrijkste veroorzakers van blaasontsteking (Zhang and Foxman 2003). Hoewel de commensale *E. coli* in het algemeen geen ziekte veroorzaakt bij gezonde mensen, bestaan er ook meer ziekteverwekkende varianten van *E. coli* ('pathotypen') die wél ernstige infecties kunnen veroorzaken bij gezonde mensen. Dergelijke *E. coli* infecties kunnen leiden tot verschillende ziektebeelden, waaronder bloederige diarree, urineweginfecties, en meningitis (Kaper et al. 2004).

Als mensen en dieren met antibiotica behandeld worden om bacteriële infecties te bestrijden, kan dat tot gevolg hebben dat bacteriën resistent worden. Zowel de ziekteverwekkende bacteriën waartegen de behandeling gericht is, maar ook commensale darmbacteriën zoals *E. coli*, kunnen resistent worden. De darmbacteriën zijn normaal gesproken gevoelig voor antibiotica, maar een enkele bacterie kan toevallig resistent zijn. Tijdens het gebruik van antibiotica kunnen de resistente bacteriën doorgroeien, terwijl gevoelige bacteriën doodgaan. Er vindt daarmee een verschuiving plaats in de samenstelling van de bacteriepopulatie in de darmen. Hoewel in de behandelde individu de ABR bacteriën vaak uiteindelijk weer in aantallen afnemen nadat de antibioticabehandeling is gestopt, kunnen de bacteriën in de tussentijd overgedragen worden naar andere mensen en dieren en naar het milieu en zich op die manier verder verspreiden. Omdat de aanwezigheid van *E. coli* en ABR *E. coli* meestal niet met ziekteverschijnselen gepaard gaat kunnen mensen en dieren ongemerkt drager zijn van ESBL-EC.

1.4.3 *ESBL-EC in het milieu*

ESBL-EC komen in het milieu terecht met de uitwerpselen van mensen en dieren, bijvoorbeeld via afvalwater en dierlijke mest (Blaak et al.

2018, Schmitt et al. 2017). Met name oppervlaktewater is een verzamelvat voor resistente bacteriën. Deze komen hier deels rechtsreeks in terecht met lozingen van afvalwater – gezuiverd via rioolwaterzuiveringsinstallaties of ongezuiverd via riooloverstorten bij hevige regen – en deels indirect met het afspoelen van dierlijke fecaliën of mest vanaf of vanuit de bodem. Mensen kunnen aan deze bacteriën worden blootgesteld bij contact met besmet water, bijvoorbeeld tijdens zwemmen in open water. ESBL-EC werden aangetoond in water op officiële Nederlandse zwemlocaties, zij het in doorgaans lage concentraties (Blaak et al. 2014, ESBLAT 2018). Kwantitatieve microbiologische blootstellingsschattingen gebaseerd op (onder andere) gemeten concentraties op officiële zwemlocaties, toonden aan dat de kans op blootstelling door zwemmen varieert tussen de 13% en 20% per keer, afhankelijk van geslacht en leeftijd (Schijven et al. 2015). Bij aanvang van deze studie waren nog geen epidemiologische studies beschikbaar die de kwantitatieve blootstellingsschattingen konden onderbouwen. Inmiddels is er één studie verschenen, uitgevoerd in Engeland, waar een directe associatie is aangetoond tussen watersport (surfen) en een verhoogd ESBL-EC dragerschap (Leonard et al. 2018).

1.4.4 *Blootstelling aan ESBL-EC door zwemmen*

Hoewel ESBL-EC in diverse milieucompartimenten zijn aangetoond, zoals bodem, lucht en water, nemen we aan dat water de meest relevante milieublootstellingsroute is. Dit heeft te maken met het gegeven dat de meeste mensen niet in contact zullen komen met besmette bodem (zoals recent bemeste grond) en dat ESBL-EC niet lang overleven in de lucht. Zo is uit luchtmetingen in en rond kippenstallen gebleken dat, hoewel in kippenstallen de aantallen *E. coli* in de lucht significant verhoogd zijn, levende *E. coli* nog nauwelijks aantoonbaar zijn op 50 tot 100 meter benedenwinds van de stallen (Hagenaars et al. 2017). In overeenstemming hiermee zijn omwonenden van veehouderijen niet vaker ESBL-EC drager dan de algemene bevolking, ondanks dat landbouwhuisdieren wel een blootstellingsbron zijn van ESBL-EC via direct contact (Dierikx et al. 2013, Wielders et al. 2017). Daarentegen is blootstelling via water door zwemmen (of andere vormen van recreatie in water) aannemelijk, omdat mensen tijdens het zwemmen, spelen of sporten vaak water binnen krijgen, en omdat oppervlaktewater vaak in meer of mindere mate gecontamineerd is met darmbacteriën. Officiële zwemlocaties voldoen aan Europese richtlijnen voor wat betreft aantallen fecale bacteriën (Anonymous 2006). Echter, ondanks dat het water op officiële zwemlocaties die aan deze normen voldoen relatief schoon is vergeleken met water wat niet aangewezen is voor recreatie, kunnen er toch ESBL-EC worden aangetroffen (Blaak et al. 2014, ESBLAT 2018) en is blootstelling mogelijk (ESBLAT 2018, Schijven et al. 2015).

Mensen die in Nederland in open water zwemmen of op andere manier recreëren, doen dat niet altijd op een officiële zwemlocatie. Een speciale categorie van zwemmen in oppervlaktewater wordt gevormd door de zogenaamde city swims en open water zwemwedstrijden. Tijdens deze evenementen worden langere afstanden gezwommen in wateren die niet aangewezen zijn voor zwemmen, zoals stadsgrachten, rivieren en kanalen. Van dergelijke wateren is meestal weinig of geen informatie beschikbaar over de microbiologische kwaliteit van het water. De

kwiteit is onder andere afhankelijk van de aanwezigheid van fecale bronnen. Zo bevat water tot enkele kilometers benedenstreams van RWZIs verhoogde concentraties ESBL-EC (Blaak et al. 2018). Met name de kwaliteit van water dat onder invloed staat van riooloverstorten kan zeer sterk variëren, met zeer hoge piekconcentraties van fecale bacteriën na perioden met hevige regenval (Blaak et al. 2018). Van grachtenwater is bekend dat het hoge aantallen fecale bacteriën en ziekteverwekkers kan bevatten en zwemmen in dergelijk water kan gezondheidsrisico's met zich meebrengen (Schets et al. 2008). Dit werd bevestigd in een epidemiologische studie uitgevoerd onder deelnemers van city swims in Utrecht en Amsterdam, waaruit bleek dat mensen die in de Amsterdamse grachten hadden gezwommen een hoger risico op maagdarmlicheten hadden (Hintaran et al. 2018).

In de huidige studie is onderzocht hoe vaak mensen ESBL-EC drager worden na deelname aan een zwemevenement, en of de ESBL-EC typen die bij zwemmers worden aangetroffen dezelfde zijn als die op de dag van het evenement in het water werden aangetroffen. Daarnaast is onderzocht of evenementzwemmers vaker ESBL-EC drager zijn dan de gemiddelde Nederlander en of er een associatie is tussen ESBL-EC dragerschap en zwemgedrag, o.a. de frequentie van zwemmen.

2 Methoden

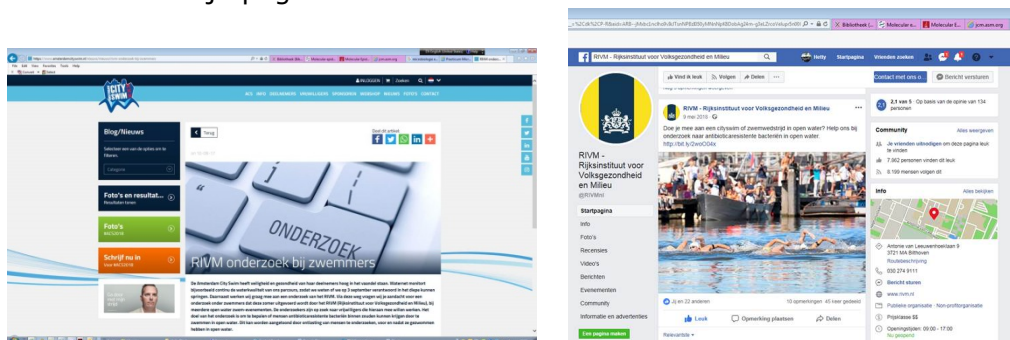
2.1 Selectie van zwemevenementen

De meeste zwemevenementen vinden plaats van juni t/m september. Met behulp van internet zijn begin 2017 en begin 2018 overzichten gemaakt van alle geplande zwemevenementen. In 2017 is selectief gezocht naar city swims, waarbij om logistieke redenen een selectie is gemaakt van evenementen waar in het verleden relatief grote aantallen mensen (>500) aan hadden meegedaan. In 2018 zijn vanwege een tegenvallend responsepercentage ook organisatoren van kleinere city swims en open water zwemwedstrijden benaderd om het beoogde aantal deelnemers te kunnen behalen.

2.2 Werving

De belangrijkste route voor werving van zwemmers was via de evenementenorganisaties. Hen is verzocht om hun deelnemers te informeren over het onderzoek via hun website, facebook en/of email (figuur 2.2-1). In 2017 zijn 10 organisaties van city swims benaderd (bijlage 7.1). Vijf hiervan hebben hun medewerking verleend aan het onderzoek. Samen organiseerden zij zes city swims. In 2018 zijn 59 organisaties van city swims en zwemwedstrijden benaderd. Hiervan hebben 30 (51%) hun medewerking verleend (bijlage 7.1).

Daarnaast is aan het einde van het eventenseizoen 2017 (in augustus) en aan het begin van het eventenseizoen 2018 (in mei) het onderzoek onder de aandacht gebracht via de RIVM facebookpagina (figuur 2.2-1). Tevens zijn flyers gestuurd naar zwembaden met het verzoek om deze op te hangen en is een oproep geplaatst op de open water wedstrijd pagina: www.noww.nl.



Figuur 2.2-1. Gebruikte methoden van werving.

2.3 Ontlastingsmonsters en enquête

2.3.1 Ontlastingsmonsters

Na aanmelding kregen de deelnemers een monsternamepakketje thuisgestuurd met alle benodigde materialen voor monstername van ontlasting en bemonsteringsinstructies (bijlage 7.2). Aan de deelnemers is gevraagd twee keer zelf ontlastingsmonsters te nemen: in de week voorafgaand aan het evenement en 4 tot 10 dagen na het evenement.

De ontlasting is opgevangen met een fecesvanger en bemonsterd met behulp van een wattenstaafje dat vervolgens in een buisje bewaarmedium (Cary Blair medium, MWE, UK) werd gestoken (zie bijlage 7.2). Dit werd met een tweede wattenstaafje herhaald, zodat per monstername 2 monsters werden genomen van dezelfde ontlasting. De monsters werden gelabeld met deelnemersnummer en monsternamedatum en per post naar het RIVM gestuurd. Met het oog op de kwaliteit van de monsters is, om de reistijd van de monsters te beperken, de deelnemers verzocht om de monsters niet op donderdagavond, vrijdag of zaterdag op de post te doen. De kwaliteit van de ontlastingsmonsters is gecontroleerd aan de hand van *E. coli* groei; bij afwezigheid van groei van *E. coli* zijn monsters niet meegenomen in verdere analyses. Bij het monsternamepakket ontvingen deelnemers een toestemmingsformulier met het verzoek dat ingevuld en ondertekend terug te sturen met de eerste set ontlastingsmonsters (of anders na een herinnering met de tweede monsters of per email). Zonder getekende toestemmingsverklaring zijn monsters niet meegenomen in de analyses.

2.3.2 Enquête

Naast ontlastingsmonsters genomen te hebben, hebben de deelnemers ook een digitale enquête ingevuld. Deze enquête bevatte algemene vragen (leeftijd, geslacht, beroep), vragen over het zwemevenement, vragen over algemeen zwemgedrag en vragen om inzicht te krijgen in andere mogelijke risicofactoren van blootstelling aan ESBL-EC, zoals reizen, contact met patiënten en dieren, en antibioticagebruik (zie bijlage 7.3). Na aanmelding ontvingen deelnemers automatisch een email met daarin de link naar de enquête en is hen verzocht deze enquête binnen twee weken na deelname aan het evenement in te vullen. Enige dagen voor het verstrijken van de termijn zijn herinneringsmails verstuurd. Bij het verstrijken van de termijn ondanks een eerste aanmaning, is een tweede en indien nodig een derde herinneringsmail gestuurd.

2.4 Watermonsters

In totaal zijn er 21 zwemevenement-trajecten bemonsterd: 11 in 2017 en 10 in 2018 (tabel 2.4-1). Het doel hiervan was om de waterkwaliteit te bepalen op evenementdagen bij evenementen met deelnemers aan het onderzoek; hiervoor zijn monsters genomen op de dag van een evenement (of indien dit niet mogelijk was maximaal enkele dagen van te voren). Daarnaast zijn extra monsters genomen om een meer algemeen beeld van de waterkwaliteit van evenementenwater te krijgen; hiervoor zijn monsters genomen ruimere tijd vóór een evenement en ook van water van evenementen met geen deelnemers aan dit onderzoek. In 2017 zijn de trajecten van alle zes meewerkende evenementorganisaties bemonsterd en van vijf niet-meewerkende evenementen. In 2018 zijn 10 trajecten bemonsterd van een selectie van evenementen waaraan meerdere deelnemers meededen. Twee locaties zijn zowel in 2017 als 2018 bemonsterd (Amsterdamse grachten en de Berkel). Van elk traject zijn twee of meer punten in het zwemparcours bemonsterd. In totaal zijn er 93 watermonsters genomen, waarvan 28 op een dag van een evenement (voorafgaand aan het evenement); de overige monsters zijn enkele dagen tot 5 weken

voor een evenement genomen. Bij acht evenementen is bemonsterd op de dag van het evenement.

In totaal hebben 201 van de deelnemers in de onderzochte wateren gezwommen én ontlastingsmonsters ingestuurd na het evenement. Dat was 73% van alle deelnemers die aan een evenement hebben meegedaan én ontlastingsmonsters hebben ingestuurd na dat evenement. De watermonsters zijn genomen volgens de standaardrichtlijnen voor bemonstering van oppervlaktewater (Anonymous 2007). De watermonsters zijn naar het laboratorium getransporteerd in een koelbox met koelelementen en daar direct gefiltreerd of opgeslagen bij 4°C en binnen 24 uur gefiltreerd.

Tabel 2.4-1. Watermonsters zwemevenementen

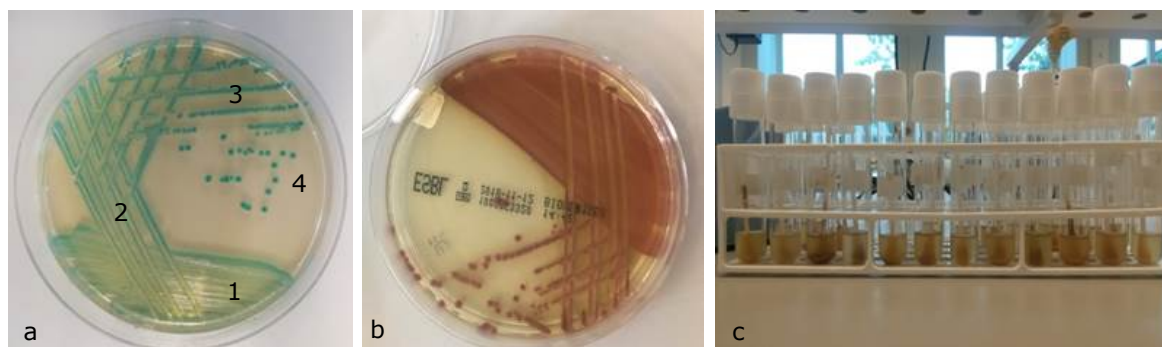
Zwemevenement	Aantal keer bemonsterd	Dag(en) van monstername ^a	Aantal locaties	Totaal aantal monsters	Aantal deelnemers ^b
<i>2017</i>					
Amsterdam City Swim	2	-4; 0	4	8	45
Swim to fight cancer Apeldoorn	1	-40	2	2	0
A local Swim Assen	1	-4	1	1	2
Swim to fight cancer Delft	1	-13	3	3	0
Swim to fight cancer Den Bosch	1	-4	5	5	1
Swim to fight cancer Doetinchem	1	-32	2	2	0
Dudok City Swim Dordrecht	3	-11; -5; 0	4	12	15
Swim to fight cancer Hoorn	2	-27; 0	6	12	7
De vrije slag door Zutphen-de Berkel	2	-11; 0	3	6	7
De vrije slag door Zutphen-de IJssel	2	-12; 0	2, 3	5	7
Hiawatha City Swim Zwolle	3	-19; -5; 0	3	9	19
<i>2018</i>					
Amsterdam City Swim	1	-3	4	4	0 ^d
LoveSwim Amsterdam (& de Amstel) ^c	1	0 (-31)	2	2	4 (4)
Swim to fight cancer Dordrecht	1	-2	4	4	32
Groningen Swim Challenge	1	-4	3	3	12
Zwem2mijl Haren	1	-2	2	2	10
Zwemmeland	1	-3	2	2	9
Marken/Monnickendam					
Unltd Swim Overschie	1	0	3	3	12
De vrije slag door Zutphen-de Berkel	1	-1	3	3	9
Swim to fight Cancer Haarlem	1	-6	3	3	4
Dopharma open water klassieker	1	-2	2	2	2
Totaal	29		61	93	201

^aDag relatief ten op zichte van de dag van het evenement; ^bAantal zwemmers die meegedaan hebben met het aangegeven zwemevenement én die ontlastingsmonsters hebben ingestuurd na het evenement; ^c4 zwemmers hebben meegedaan aan de Loveswim die plaatsvond in de Amstel, daarnaast hebben 4 zwemmers in de Amstel gezwommen als training voor de ACS; ^dEr waren 37 aanmeldingen, maar het evenement is afgelast.

2.5 Isolatie van ESBL-EC

2.5.1 Ontlasting

Op de dag van ontvangst zijn de ontlastingsmonsters ingezet. Zowel de datum van ontvangst als van monsternamen zijn genoteerd, zodat de duur tussen bemonsteren en inzetten kweek bekend was. Eén van de wattenstaafjes werd gebruikt om een deel van het monster af te strijken op Tryptone Bile Glucuronic Agar (TBX) en een deel op ChromID ESBL agar. Groei op TBX werd gebruikt als controle: monsters werden goedgekeurd als er minimaal groei van *E. coli* was tot en met de tweede entstreepzone (figuur 2.4.1). ChromID ESBL agar werd gebruikt voor de isolatie van ESBL-EC. De tweede wattenstaaf werd in 1ml LB bouillon met 1µg/ml cefotaxime gestopt voor ophoping. Beide typen platen en de bouillon werden bebroed bij $36\pm 2^\circ\text{C}$ gedurende 18-24 uur. Na bebroeding werden de TBX- en ChromID ESBL platen beoordeeld op groei van *E. coli* (respectievelijk groene en bruin-roze kolonies, figuur 2.5-1). Indien er op de ChromID ESBL platen geen groei was zijn de ophopingen afgestreken op ChromID ESBL agar met behulp van een 10 µl öse. Deze plaat is ook bebroed bij $36\pm 2^\circ\text{C}$ gedurende 18-24 uur en beoordeeld op groei van *E. coli*.



Figuur 2.5-1. Gebruikte kweekmethoden. Voor de kweek van *E. coli* is TBX gebruikt (a). *E. coli* is herkenbaar aan de groene kleur. De vier entstreepzones zijn weergegeven met de nummers 1 t/m 4. Voor de kweek van ESBL-EC is de ontlasting direct afgeënt op ChromID ESBL agar (b) en is het opgehoopt in LB bouillon met cefotaxime (c). ESBL-EC zijn op ChromID ESBL agar herkenbaar aan de bruin-roze kleur.

2.5.2 Water

Watermonsters werden gefiltreerd door membraanfilters met een poriegrootte van $0,45\ \mu\text{m}$ volgens standaard voorschriften (Anonymous 2018). Voor de enumeratie van *E. coli* werd 3 ml, 10 ml, 30 ml en 100 ml gefiltreerd, voor de enumeratie en isolatie van ESBL-EC werd vijf keer 100 ml gefiltreerd. De filters werden vervolgens op TBX of op ChromID ESBL agar geplaatst en 4 tot 5 uur bebroed bij $36\pm 2^\circ\text{C}$, gevolgd door 21 ± 3 uur bij $44\pm 0,5^\circ\text{C}$. De hoge temperatuur wordt gebruikt om groei van stoorflora, wat veel aanwezig is in water, te remmen. Na bebroeden werden de *E. coli* kolonies geteld (groen op TBX en bruin-roze op ChromID ESBL agar). De bacterieconcentraties werden berekend als de som van de kolonies geteld op alle filters met minder dan 200 kolonies, gedeeld door de som van de volumes gefiltreerd door alle filters met minder dan 200 kolonies.

2.6 Karakteriseren van ESBL-EC

Uit elk positief ontlastingsmonster werden maximaal drie ESBL-EC kolonies reingestroken voor verdere analyses. Uit elk positief watermonster werden maximaal vijf ESBL-EC kolonies reingestroken voor verdere analyse. Met behulp van PCR en sequentieanalyse werden de ESBL-genen in de isolaten aangetoond en geïdentificeerd. Hiervoor werd een klein beetje koloniemateriaal opgenomen in ultrapuur water (milliQ). Alle PCRs werden uitgevoerd op 1 µl van de isolaat suspensie, met behulp van de multiplex PCR kit van Qiagen. De gebruikte primers staan in bijlage 7.4. De PCR-producten werden gezuiverd (met ExoSAP-IT van GE Healthcare) en gesequenced met dezelfde primers als waar het PCR product mee was verkregen. De resulterende sequenties werden vergeleken met referentie sequenties in de online database (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pathogen/betalactamases/Allele.tab>) gebruikmakend van BioNumerics software (versie 7.6.3; Applied Maths).

Alle zwemmersisolaten werden daarnaast getypeerd met behulp van multi locus sequentie typering (MLST). Voor deze analyse werden zeven zogenaamde 'huishoudgenen' gePCRd en gesequenced (*adk*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA* en *recA*) zoals dat eerder is beschreven in de literatuur (Wirth et al. 2006). De gebruikte primers zijn beschreven op de *E. coli* MLST database webpagina: <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/mlst/dbs/Ecoli>. Om het sequentietype vast te stellen werden de verkregen sequenties vergeleken met sequenties in de online database, gebruikmakend van BioNumerics software (versie 7.6.3; Applied Maths). In de gevallen dat ESBL-EC geïsoleerd uit water op de dag van een evenement dezelfde ESBL-genen hadden als isolaten van deelnemers die in dat water hadden gezwommen, werd het *adk*-gen van het waterisolaat geanalyseerd om te onderzoeken of het om eenzelfde type zou kunnen gaan. Als er ook voor het *adk*-gen overeenkomst was werd er ook voor het waterisolaat een volledige MLST uitgevoerd.

2.7 Statistische analyses

ESBL-EC dragerschap onder de zwemmers is onderzocht in relatie tot deelname aan een zwemevenement, in relatie tot algemeen open water zwemgedrag en overige risicofactoren, en in relatie tot dragerschap bij de algemene bevolking. Sommige zwemmers hebben meerdere keren meegedaan aan het onderzoek (bijvoorbeeld met verschillende zwemevenementen in één jaar, of met hetzelfde evenement in beide jaren). Om te corrigeren voor het feit dat sommige personen vaker voorkomen onder de deelnemers is in statistische analyses de data geclusterd op persoon en evenement plus het jaar van deelname.

2.7.1 ESBL-EC dragerschap in relatie tot deelname aan een zwemevenement
Het verschil in ESBL-EC dragerschap vóór en ná evenementen is getoetst met behulp van logistische regressie, waarbij gecorrigeerd is voor clustering op het niveau van het individu, jaar, en evenement, volgens een eerder beschreven model (Cameron et al. 2006, Thompson 2011). Ditzelfde is gedaan om de correlatie te onderzoeken tussen evenement-specifieke variabelen (de gezwommen afstand, zwemduur, gebruikte zwemslag en of er water ingeslikt was) en het worden van ESBL-EC drager na deelname aan een zwemevenement. Dit is

onderzocht in de deelnemers die voor het zwemevenement geen ESBL-EC drager waren.

2.7.2 *ESBL-EC dragerschap in relatie tot zwemgedrag in het algemeen en niet-zwemgerelateerde risicofactoren*

Op dezelfde wijze als beschreven in paragraaf 2.7.1 zijn risicofactoren van ESBL-EC dragerschap geïdentificeerd, los van de timing van dragerschap ten opzichte van het zwemevenement. Hiervoor is ESBL-dragerschap van vóór en na het evenement gecombineerd. Onderzocht zijn factoren gerelateerd aan algemeen open water zwemgedrag (zoals hoe vaak gezwommen in 12 maanden en in wat voor water) als mogelijke andere factoren (zoals buitenlandse reizen, ziekenhuisopname, antibioticagebruik, contact met patiënten, contact met dieren).

2.7.3 *ESBL-EC prevalentie bij zwemmers vergeleken met algemene bevolking*

Als referentie voor 'de algemene bevolking' zijn in dit onderzoek gegevens gebruikt afkomstig uit de ESBLAT studie (ESBLAT 2018). In die studie zijn tussen 2014 en 2016 4177 mensen onderzocht op dragerschap van ESBL-producerende *Enterobacteriaceae* en zijn mogelijke risicofactoren geïnventariseerd met behulp van een vragenlijst. Van de deelnemers aan de ESBLAT studie was één meting per persoon beschikbaar. Om de vergelijking tussen zwemmers en de ESBLAT onderzoekspopulatie evenwichtiger te maken is ook voor de zwemmers één meting gebruikt, die van na het evenement.

De ESBL-EC prevalentie bij zwemmers en de ESBLAT onderzoekspopulatie is vergeleken door het berekenen van een "gestandaardiseerde incidentieratio" van de ESBL-EC prevalentie. Dit is de ratio van de geobserveerde ESBL-EC prevalentie onder zwemmers en de verwachte ESBL-EC prevalentie op basis van de prevalentie in de ESBLAT deelnemers. Om te corrigeren voor eventuele verschillen in karakteristieken tussen de twee onderzoekspopulaties zijn de groepen voor de vergelijking van prevalentie gestratificeerd. Dit is gedaan voor geslacht, leeftijdscategorie, geboorteland, opleidingsniveau, reizen buiten de EU, ziekenhuisopname, antibioticagebruik, en het hebben van een beroep in de gezondheidszorg. De 95% betrouwbaarheidsintervallen en p-waardes zijn berekend op basis van een veronderstelde Poisson verdeling. Een p-waarde lager dan 0,05 geeft een significant verschil aan tussen de ESBL prevalentie in zwemmers en de algemene bevolking.

3 Resultaten

3.1 Deelnemers

3.1.1 Aanmeldingen

In totaal zijn er 338 aanmeldingen voor deelname aan het onderzoek geweest: 119 in 2017 en 219 in 2018. Omdat 18 zwemmers zich met meerdere evenementen hebben aangemeld, waarvan 6 zowel in 2017 als 2018, wijkt het aantal aangemelde zwemmers hier van af. In totaal hebben zich 308 personen aangemeld, 118 in 2017 en in 196 in 2018 (dat is samen 314, maar 6 personen tellen in beide jaren mee).

In 2017 hebben deelnemers van acht verschillende zwemevenementen zich aangemeld voor het onderzoek (bijlage 7.1). Er waren gemiddeld 15 aanmeldingen per zwemevenement (spreiding 1 tot 51 per evenement) en 97% van de aanmeldingen (n=116) betrof een zwemevenement waarvan de organisatie medewerking had verleend aan de werving. In 2018 hebben deelnemers van 62 verschillende evenementen zich aangemeld. Er waren dat jaar gemiddeld 3,5 aanmeldingen per evenement (spreiding 1 tot 38) en 71% van de aanmeldingen (n=156) betrof een zwemevenement waarvan de organisatie medewerking had verleend aan de werving.

3.1.2 Compliance

Van de 338 aanmeldingen is 305 keer (90%) minimaal één keer een ontlastingsmonster ingestuurd, d.w.z. voor en/of na een evenement. Deze 305 deelnemers hebben gezamenlijk 574 ontlastingsmonsters ingestuurd, waarvan 21 werden afgekeurd vanwege een negatieve uitslag van de kwaliteitscontrole. In totaal was van 298 deelnemers minimaal één voor analyse te includeren ontlastingsmonster verkregen. Van 255 deelnemers was een vóór- en een na-monster beschikbaar voor analyse, van 291 deelnemers een voor-monster en van 262 deelnemers een na-monster.

De voornaamste redenen voor het niet insturen van monsters was het toch niet deelnemen aan een evenement, of het niet doorgaan van een evenement. In 2018 gingen zes zwemevenementen waarvoor aanmeldingen waren niet door, waaronder het grootste evenement van Nederland, de Amsterdam City Swim (zie bijlage 7.1). In de meeste gevallen is bij deze aanmeldingen wel een 'vóór het evenement' monster ingestuurd. Dit verklaart de discrepantie tussen het aantal ingestuurde voor-monsters en het aantal ingestuurde na-monsters. Een deel van de zwemmers die zich met een van de afgelaste evenementen had aangemeld heeft vervolgens nog aan het onderzoek meegedaan met een ander evenement. De zwemmers die daadwerkelijk hebben meegedaan aan dit onderzoek, hebben gezamenlijk deelgenomen aan 74 verschillende zwemevenementen (8 in 2017, 66 in 2018).

De vragenlijst is ingevuld en opgestuurd door 285 van de 305 (93%) deelnemers, en door 278 van de 298 deelnemers met minstens één bruikbaar ontlastingsmonster.

3.2 Algemene karakteristieken en zwemgedrag van deelnemers

3.2.1 Algemene karakteristieken

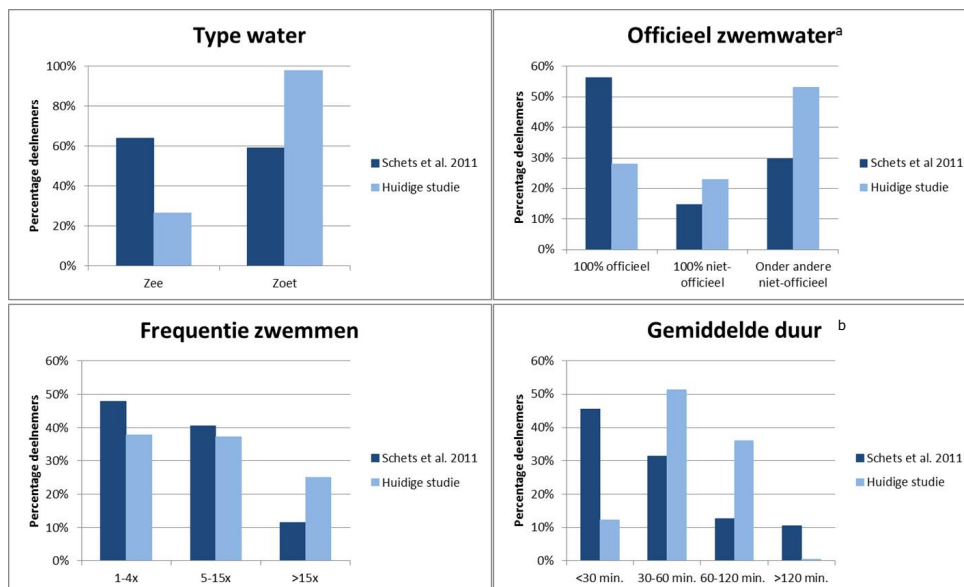
Van de 278 deelnemers met minstens één ontlastingsmonster en een ingevulde vragenlijst was 39% man en 59% vrouw. Op het moment van deelname was 73% van de deelnemers tussen de 40 tot 65 jaar en 98% was in Nederland geboren (bijlage 7.5, tabel 1).

3.2.2 Algemeen zwemgedrag

De deelnemers van zwemevenementen bleken in het algemeen frequent in open water te zwemmen: 88% had gedurende het jaar voorafgaand aan het evenement vaker in Nederlands open water gezwommen, en 48% had in de 6 maanden voorafgaand aan het evenement in het buitenland in open water gezwommen (bijlage 7.5, tabel 1). Van de 244 deelnemers die vóór het evenement in Nederlands open water hadden gezwommen, had 62% dit vaker dan 5 keer gedaan, en 56% had meer dan drie keer getraind door minstens een kilometer achterelkaar te zwemmen (bijlage 7.5, tabel 2). In 47% van de gevallen was de laatste keer dat in open water was gezwommen voorafgaand aan het evenement minder dan een week van te voren, en bij 75% was dat binnen twee weken.

De deelnemers die vaker in open water zwommen deden dat in meren of plassen (79%), in rivieren en kanalen (65%), en in de zee (27%). Het totaal is meer dan 100% omdat mensen vaak in meerdere typen water zwemmen (bijlage 7.5, tabel 2). Er werd bijna net zo vaak op officiële zwemlocaties als op niet-officiële zwemlocaties gezwommen: 28% van de zwemmers gaf aan alleen op officiële zwemlocaties gezwommen te hebben 23% alleen op niet-officiële locaties en 27% in beide. Een kwart van de deelnemers gaf daarnaast aan dat het voor (een deel van) het water bij hen niet bekend is of het officiële of niet-officiële zwemlocaties betrof. In totaal had 53% (n=127) op niet-officiële zwemlocaties gezwommen (bijlage 7.5, tabel 2).

Vergeleken met een onderzoek naar zwemgedrag uitgevoerd onder leden van de algemene bevolking (Schets et al. 2011) waren de deelnemers aan het huidige onderzoek vooral zoetwater zwemmers, zwommen ze vaker op niet-officiële zwemlocaties, en was er een groter percentage dat relatief vaak (meer dan 15 keer) en relatief lang (meer dan 60 minuten) zwemt (figuur 3.2-1).



Figuur 3.2-1. Open water zwemgedrag bij deelnemers aan de huidige studie en zwemmers in een eerder uitgevoerd onderzoek onder de algemene bevolking. De resultaten van het eerder uitgevoerde onderzoek (Schets et al. 2011) zijn verkregen uit een enquête ingevuld door 8000 leden van de algemene bevolking in 2007 en 2009. Onder deze mensen waren 1839 mensen (23%) die in open water zwommen. De percentages in de figuren zijn gebaseerd op het zwemgedrag van deze 1839 personen. ^aAlleen weergegeven voor zoet water, omdat in de huidige studie voor zeewater niet gevraagd is of het officieel zwemwater betrof of niet; ^bin de studie door Schets en al. is de totale zwemduur per zwembezoek weergegeven, in de huidige studie de duur van één keer zwemmen.

3.2.3 Zwemgedrag tijdens zwemevenementen

De meeste deelnemers (61%) zwommen tijdens het evenement een afstand van tussen de twee en vijf kilometer en 50% zwom tussen de 30 en 60 minuten (bijlage 7.5, tabel 3). Borstcrawl was de meest gebruikte zwemslag: 72% van de deelnemers gebruikte deze zwemslag, en bij 50% was dit de enige gebruikte zwemslag. Schoolslag werd door 50% van deelnemers gebruikt en was in 26% van de gevallen de enige gebruikte slag. Water werd ingeslikt door 77% van de deelnemers. Meestal werd de ingeslikte hoeveelheid door de deelnemers geschat op minder dan 4 slokken (58%).

3.3 ESBL-EC dragerschap bij zwemmers

3.3.1 Dragerschap in relatie tot deelname aan zwemevenementen

Onder de 278 deelnemers met minstens één ontlastingsmonster en ingevulde vragenlijst was de prevalentie voor en na het evenement respectievelijk 8,9% en 9,8% (tabel 3.3-1). Wanneer rekening gehouden werd met clustering op jaar, evenement en persoon, was het verschil in prevalentie voor en na een evenement niet significant ($p=0,45$).

Van de 255 deelnemers met een goedgekeurd voor- én na-monster converteerden tien (3,9%) van ESBL-EC-negatief vóór het evenement naar ESBL-EC-positief na het evenement. De tijd tussen de eerste (negatieve) monsternamen en de tweede (positieve) monsternamen was bij deze tien deelnemers gemiddeld 10 dagen (spreiding: 5 tot 20

dagen). Het tijdstip van de positieve meting was in deze 10 gevallen gemiddeld 7 dagen na het zwemevenement (spreiding: 2 tot 15 dagen). Daarnaast waren zeven (2,8%) deelnemers de week vóór het evenement ESBL-EC positief, maar erna niet meer.

Voor de deelnemers die vóór het zwemevenement negatief waren is onderzocht of bepaald zwemgedrag tijdens evenementen geassocieerd is met dragerschap ná het evenement (bijlage 7.6, tabel 1). In univariate analyses was borstcrawl een significante beschermende factor wanneer dit de enig gebruikte slag was: ESBL-EC dragerschap na het evenement was significant lager bij deelnemers die alleen borstcrawl gebruikt hadden vergeleken met deelnemers die alleen schoolslag gebruikt hadden (1,7% vs. 9,1%; OR 6,0, $p=0,023$), en in mindere mate (en niet statistisch significant) bij deelnemers die een combinatie van verschillende slagen hadden gebruikt (5,4%; OR 4,5. $P=0,093$). Borstcrawl kwam echter niet als een voorspellende variabele uit de multivariate analyse (zie ook paragraaf 3.3.2). Er was geen correlatie tussen de gezwommen afstand, duur van het zwemmen, of het binnenkrijgen van water tijdens het evenement en dragerschap na het evenement.

Tabel 3.3-1. ESBL-EC dragerschap voor en na zwemevenementen.

Deelnames met	Totaal	Positief	% Positief	95% BI
Vóór-monsters	271	24	8,9	8,7 – 9,4
Na-monsters	256	25	9,8	6,9 – 14,5
Voor en/of na-monsters	278	34	12,2	9-2 – 17,6

3.3.2 *Dragerschap in relatie tot zwemgedrag buiten de evenementen en overige risicofactoren*

In totaal was 12,2% van de 278 deelnemers op minstens één tijdstip, voor en/of na het evenement, drager van ESBL-EC. Er was geen significante associatie tussen ESBL-EC dragerschap (op enig tijdstip gedurende het onderzoek) en zwemgedrag in het algemeen, zoals de frequentie van zwemmen in open water, de gemiddelde duur van zwemmen, of het type water waarin gezwommen wordt (bijlage 7.6, tabel 2). Aan de deelnemers is niet gevraagd wat voor zwemslag(en) ze gebruikten wanneer zij gezwommen hadden vóór het evenement. Echter, de deelnemers die tijdens het evenement alleen gebruik maakten van borstcrawl waren ook in het algemeen minder vaak drager van ESBL-EC dan deelnemers die tijdens het evenement alleen gebruik maken van schoolslag (7,0% vs. 19%; OR 3,1, $p=0,043$).

Van de onderzochte risicofactoren die niet aan zwemmen gerelateerd zijn, zijn alleen beroepsmatig contact met patiënten en reizen naar landen buiten de EU als significante risicofactoren geïdentificeerd, zowel in een univariate analyse (bijlage 7.6, tabel 3), als in een multivariate analyse (tabel 3.3-2). Daarnaast was er een zwakke (statistisch niet significant) associatie met opname in een ziekenhuis (odds ratio 3,6; $p=0,064$) (tabel 3.3-2).

Tabel 3.3-2. Risicofactoren voor dragerschap bij zwemmers

	ESBL negatief (n=244) N (%)	ESBL positief (n=34) N (%)	OR ^a	95% BI	P-waarde
Leeftijd (categorisch)	-	-	0,77	0,26 – 2,29	0,638
Geslacht					
Vrouw	147 (87%)	23 (14%)	Ref		
Man	97 (90%)	11 (10%)	0,98	0,43 – 2,24	0,968
Beroepsmatige blootstelling aan patiënten					
Nee	209 (90%)	24 (11%)	Ref		
Ja	35 (78%)	10 (22%)	2,86	1,30-6,30	0,009
Reizen buiten de EU in de afgelopen 6 maanden					
Nee	198 (90%)	21 (10%)	Ref		
Ja	46 (78%)	13 (22%)	3,04	1,26 – 7,35	0,014
Ziekenhuisopname in de afgelopen 12 maanden					
Nee	235 (89%)	30 (11%)	Ref		
Ja	9 (69%)	4 (31%)	3,63	0,93 – 14,2	0,064

OR = Odds Ratio, BI = Betrouwbaarheidsinterval, ref = referentiewaarde; ^aRekening houdend met clustering per jaar, evenement en persoon

3.4 ESBL-EC dragerschap in zwemmers vergeleken met de algemene bevolking

In de algemene Nederlandse bevolking is 4,5% drager van ESBL-EC (ESBLAT 2018). Uitgaande van 10% prevalentie na evenementen was de prevalentie in de zwemmers daarmee ruim twee keer zo hoog als in de algemene bevolking en dit verschil was statistisch significant ($p=0,0001$). Deze bevinding suggereert dat zwemmen in open water een verhoogd risico geeft op ESBL-EC dragerschap. Omdat de twee onderzoeksgroepen kunnen verschillen wat betreft het aantal mensen met niet-zwemgerelateerd risicogedrag (zoals de factoren aangegeven in tabel 3.3-2), is ESBL-EC dragerschap ook vergeleken in supgroepen gestratificeerd op basis van verschillende deelnemer-karakteristieken en risicofactoren (tabel 3.4-1). Uit deze analyse blijkt dat in bijna alle supgroepen ESBL-EC dragerschap hoger is in zwemmers dan in de algemene bevolking. Dit geldt ook voor de drie bij zwemmers geïdentificeerde risicofactoren: beroepsmatig contact met patiënten (22,2% vs. 4,1%; $p<0,0001$), reizen buiten de EU (18,9% vs. 8,8%; $p=0,042$) en ziekenhuisopname (36,4% vs. 5,7%; $p=0,008$).

Wat betreft algemene karakteristieken bleek dragerschap bij zwemmers met name verhoogd bij vrouwen (11,5% vs. 4%; $p<0,0001$) maar niet bij mannen (7,1 vs. 4,9; $p=0,4$). Stratificatie naar leeftijdscategorie, opleidingsniveau en antibioticagebruik lieten alleen statistisch significante verschillen zien tussen zwemmers en algemene bevolking in de categorieën waarbij de aantallen zwemmers relatief hoog waren.

Tabel 3.4-1. ESBL-EC dragerschap in zwemmers vs. algemene bevolking.

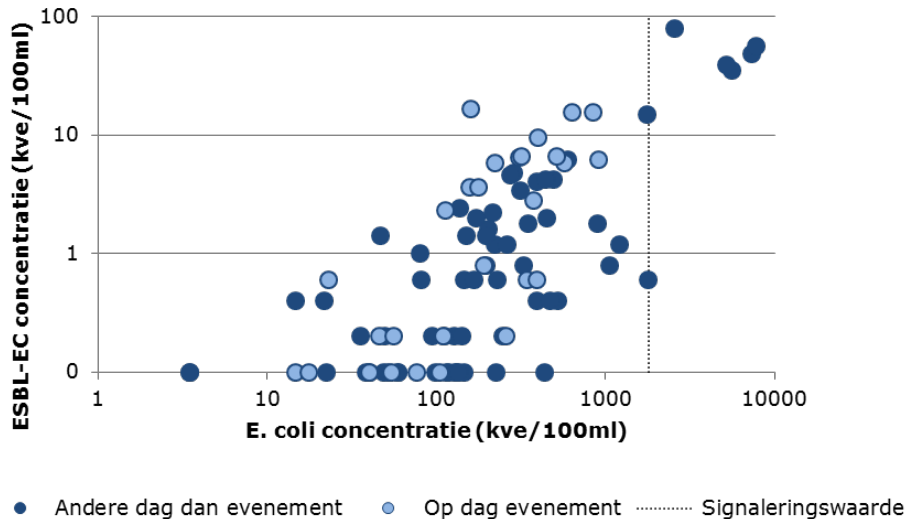
	ESBLAT	Zwemmers ^a	Waargenomen	Verwacht	SIR	2,5% OG	97,5% BG	p-waarde
Geslacht								
Man	4,9%	7,1%	7	4,9	1,4	0,6	2,9	0,447
Vrouw	4,0%	11,5%	18	6,3	2,9	1,7	4,5	0,000
Geboorteland								
Nederland	4,3%	9,6%	24	10,7	2,2	1,4	3,3	0,001
Ander land	9,4%	20,0%	1	0,5	2,1	0,0	11,9	0,750
Leeftijdsgroep								
13-19	4,9%	33,3%	1	0,1	6,8	0,1	37,9	0,279
20-39	3,8%	8,8%	5	2,2	2,3	0,7	5,3	0,143
40-64	4,9%	9,6%	18	9,3	1,9	1,2	3,1	0,014
65-79	4,3%	12,5%	1	0,3	2,9	0,0	16,2	0,576
Opleidingsniveau								
Hoog	5,5%	9,6%	18	10,3	1,7	1,0	2,8	0,037
Middel	3,5%	9,5%	6	2,2	2,7	1,0	5,9	0,050
Laag	4,2%	33,3%	1	0,1	7,9	0,1	43,8	0,244
Reizen buiten de EU in de afgelopen 6 maanden								
Ja	8,8%	18,9%	10	4,6	2,2	1,0	4,0	0,042
Nee	3,7%	7,4%	15	7,6	2,0	1,1	3,3	0,023
Ziekenhuisopname in de afgelopen 12 maanden								
Ja	5,7%	36,4%	4	0,6	6,4	1,7	16,4	0,008
Nee	4,3%	8,6%	21	10,5	2,0	1,2	31,1	0,006
Antibioticagebruik in de afgelopen 12 maanden								
Ja	5,4%	9,1%	3	1,8	1,7	0,3	4,9	0,533
Nee	4,0%	9,9%	22	9,0	2,4	1,5	3,7	0,000
Beroepsmatig contact met patiënten								
Ja	4,1%	22,2%	8	1,5	5,4	2,3	10,7	0,000
Nee	4,5%	7,7%	17	9,9	1,7	1,0	2,8	0,048
Overall	4,5%	9,8%	25	11,4	2,2	1,4	3,2	0,001

De percentages geven het percentage ESBL-EC positieve deelnemers weer onder de deelnemers van ESBLAT en de zwemmers, in de verschillende sub- of risicogroepen. Naast de percentages staan het aantal waargenomen dragers onder de zwemmers en het aantal dat verwacht zou worden als per categorie de prevalentie bij ESBLAT deelnemers en zwemmers hetzelfde was. ^aGebruikt zijn de resultaten van na evenementen. SIR = Standardised Incidence Ratio (gestandaardiseerde incidentieratio), OG = ondergrens, BG = bovengrens.

3.5 Waterkwaliteit en prevalentie van ESBL-EC in evenementenwater

De *E. coli* concentraties in evenementenwater varieerden van 3 tot $7,8 \times 10^3$ kve/l (figuur 3.5-1). Het geometrisch gemiddelde was $1,9 \times 10^2$ kve/100 ml. In zes (6.5%) van de 93 monsters werd een overschrijding gevonden van de signaleringswaarde voor water op officiële zwemlocaties van 1800 kve/100 ml. Vier van deze zes overschrijdingen betroffen monsters van vier locaties bij één traject, enkele dagen voorafgaand aan het evenement; dit evenement is door de organisatie afgelast vanwege te slechte waterkwaliteit. De andere twee overschrijdingen waren op twee van zes locaties in een ander traject, een maand voorafgaand aan het evenement; op de dag van het

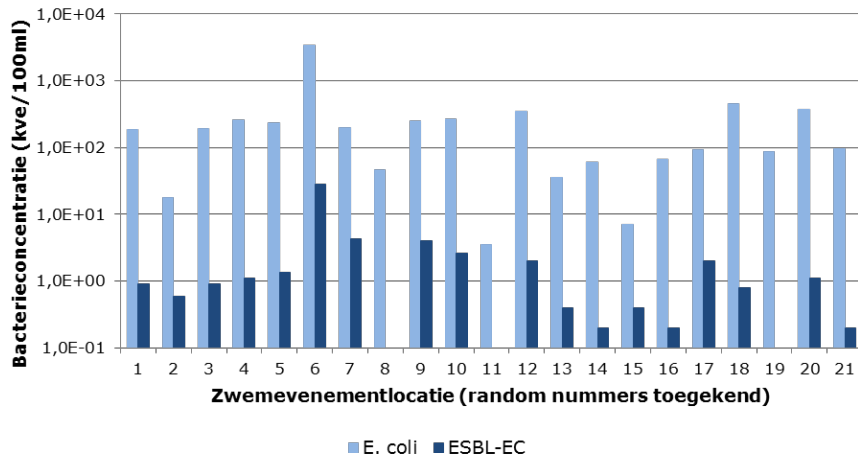
evenement waren er geen overschrijdingen. In monsters genomen op de dag van een evenement was de geometrisch gemiddelde *E. coli* concentratie $2,6 \times 10^2$ kve/100 ml.



Figuur 3.5-1. E. coli en ESBL concentraties in evenementenwater. Monsters die op de dag van het evenement zelf zijn genomen zijn apart aangegeven. De ESBL-EC waarnemingen die op de x-as zijn weergegeven geven de monsters weer waar geen ESBL-EC in werden aangetroffen. De gestippelde verticale lijn geeft de signaleringswaarde voor zwemwater aan van 1800 kve/100ml.

In 69 van de 93 van de watermonsters (74%) werden ESBL-EC aangetroffen. De concentraties varieerden van 0,2 tot 80 kve/100 ml (figuur 3.5-1). De geometrisch gemiddelde ESBL-EC concentratie was 1,7 kve/100 ml. In de 28 monsters die op een evenementdag zijn genomen was het geometrisch gemiddelde 2,2 kve/100 ml, en was 79% (n=22) van de monsters positief voor ESBL-EC.

Tussen evenementlocaties varieerde de geometrische gemiddelden van $3,5$ tot $3,4 \times 10^3$ kve/100 ml voor *E. coli* en $<0,2$ tot 28 kve/100 ml voor ESBL-EC (figuur 3.5-2). Op bemonsterde evenementdagen was de variatie tussen evenementlocaties kleiner: $1,8 \times 10^1$ tot $4,0 \times 10^2$ kve/100 ml voor *E. coli* en $<0,2$ tot 7,4 kve/100 ml voor ESBL-EC.



Figuur 3.5-2. Geometrisch gemiddelde bacterieconcentraties per zwemmenlocatie. Voor deze weergave zijn de locaties random genummerd.

Aangewezen zwemlocaties worden geclassificeerd volgens EU richtlijnen (Anonymous 2006). De klassenindeling is uitstekend, goed, voldoende of slecht, en is gebaseerd op de 95- en 90-percentiel waarden van minimaal 16 metingen. Om een indicatie te geven van de microbiologische kwaliteit van de onderzochte evenement wateren zijn deze hieronder volgens de zwemwatterrichtlijnen geclassificeerd (tabel 3.5-1). Hierbij moet de kanttekening worden gemaakt dat de analyse minder nauwkeurig is dan officieel vereist zou zijn, omdat sprake was van weinig tot zeer weinig monsters per traject, én de monsters vaak afkomstig waren van één datum. Hierdoor is de classificatie slechts een momentopname. Van de evenementwateren viel 62% in de categorie 'uitstekend' en slechts 14% in de categorie 'slecht'. ESBL-EC werden aangetroffen in alle kwaliteitsklassen.

Tabel 3.5-1. Waterkwaliteit^a op zwemevenementtrajecten.

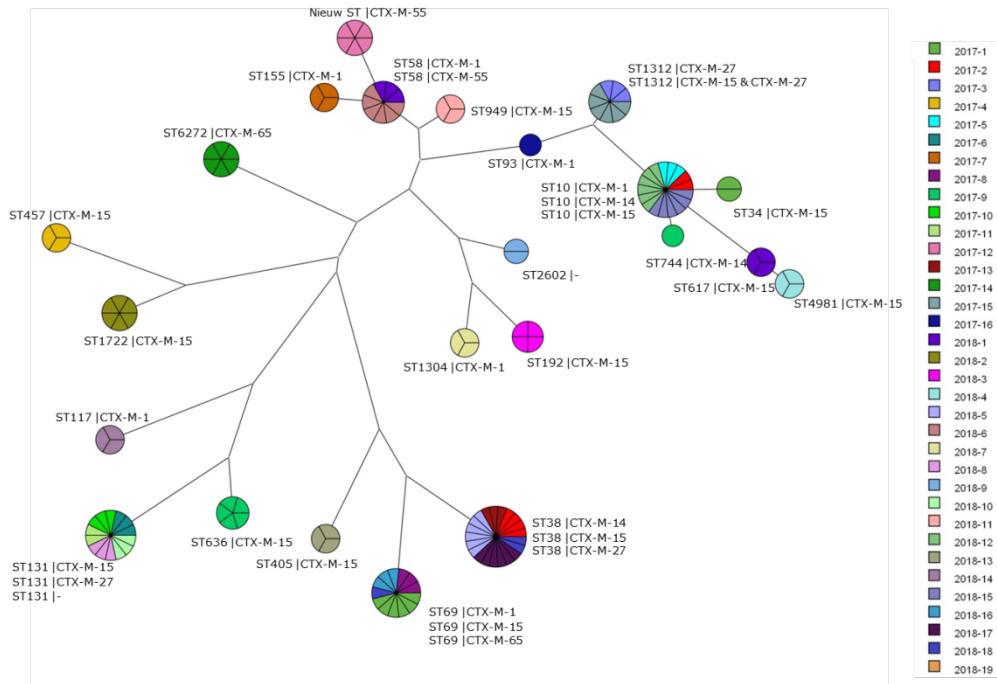
Nr. ^b	Aantal monsters	Geomean <i>E. coli</i>	95-percentiel	90-percentiel	Kwaliteit ^a	% positief ESBL-EC ^c
1	4 t/m 12	1,9E+02	508	419	Goed	44%
2	≤ 3	1,8E+01	23	22	Uitstekend	33%
3	≤ 3	1,9E+02	242	238	Uitstekend	100%
4	≤ 3	2,6E+02	323	316	Uitstekend	100%
5	4 t/m 12	2,3E+02	973	880	Goed	100%
6	4 t/m 12	3,4E+03	7740	7647	Slecht	100%
7	4 t/m 12	2,0E+02	1283	804	Voldoende	88%
8	≤ 3	4,6E+01	53	52	Uitstekend	0%
9	4 t/m 12	2,5E+02	493	469	Uitstekend	100%
10	≤ 3	2,7E+02	310	306	Uitstekend	100%
11	≤ 3	3,5E+00	4	4	Uitstekend	0%
12	4 t/m 12	3,5E+02	2143	1705	Slecht	92%
13	≤ 3	3,6E+01	58	56	Uitstekend	50%
14	≤ 3	6,0E+01	92	89	Uitstekend	50%
15	≤ 3	7,2E+00	14	14	Uitstekend	50%
16	≤ 3	6,8E+01	123	119	Uitstekend	100%
17	≤ 3	9,2E+01	166	160	Uitstekend	50%
18	4 t/m 12	4,6E+02	1105	1002	Slecht	100%
19	≤ 3	8,8E+01	114	112	Uitstekend	0%
20	4 t/m 12	3,7E+02	826	759	Goed	75%
21	4 t/m 12	9,7E+01	362	284	Uitstekend	33%

^aBij benadering. De berekening is gedaan volgens EU richtlijnen, echter officieel moet de klassering gebaseerd zijn op minstens 16 monsters (Anonymous 2006).^bRandom nummering zelfde als in figuur 3.5-2.

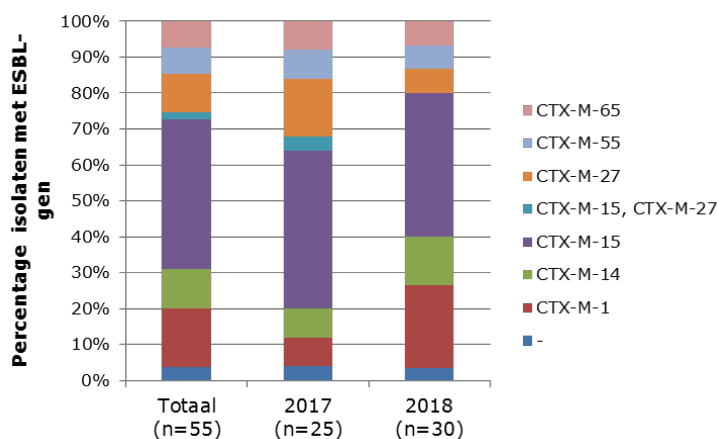
3.6 Typen ESBL-EC bij zwemmers

Van in totaal 34 zwemmers zijn ESBL-EC isolaten verkregen voor en/of na een evenement. Van één zwemmer werden ESBL-EC verkregen rond twee verschillende evenementen. De ESBL-EC afkomstig van de zwemmers zijn gekarakteriseerd voor wat betreft ESBL-genen en sequentietype (figuur 3.6-1). Er werd een groot aantal verschillende sequentietypes (STs) gevonden. De meest voorkomende STs waren ST38 en ST131 (elk in vijf zwemmers) en ST10 en ST69 (elk in vier zwemmers). Hoewel drie ESBL-EC per positieve ontlasting werden onderzocht werd bij de meeste dragers één type ESBL-EC gevonden voor wat betreft ST en ESBL-gen combinatie. In vier gevallen had een zwemmer op één moment twee verschillende ESBL-EC typen in de ontlasting (tabel 3.6-1). In 14 van de in totaal 15 zwemmers die zowel voor als na een evenement drager waren, was het ESBL-type dat na het evenement werd aangetroffen ook vooraf aanwezig. Dit pleit tegen inname tijdens het evenement. Echter één zwemmer had voor en na een evenement verschillende ESBL-EC typen en aansluitend aan een volgend evenement, ruim een maand later, een derde type. Voor deze zwemmer is het daarom wel mogelijk dat er, bij beide deelnames, sprake is geweest van opname van een ESBL-EC tijdens het evenement.

Het meest voorkomende ESBL-gen was CTX-M-15. Dit gen kwam bij totaal in 42% van de ESBL-EC isolaten voor (figuur 3.6-2). De verdeling van genen was vergelijkbaar tussen de jaren, hoewel in 2018 CTX-M-1 en CTX-M-14 iets vaker leken voor te komen, en in 2017 CTX-M-27. Deze verschillen waren echter niet statistisch significant.



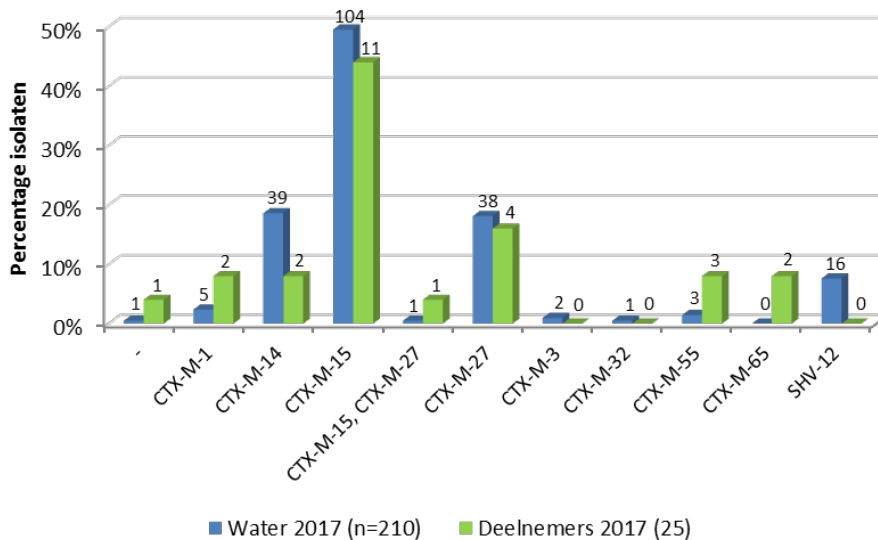
Figuur 3.6-1. Maximum parsimony tree van 140 ESBL-EC isolaten van 34 zwimmers gebaseerd op de samengestelde sequenties van de zeven MLST allelen. De grootte van de knopen wordt bepaald door het aantal isolaten met het gegeven ST, elke kleur geeft de isolaten van één deelname weer. Er waren vier deelnemers waar meerdere typen ESBL-EC op een tijdstip werden aangetoond: 2017-2 (ST10/CTX-M15, ST38/CTX-M15), 2017-3, (ST1312/CTX-M-27, ST1312/CTX-M-15&CTX-M-27), 2017-9 (ST636/CTX-M-15, ST744/CTX-M-14) en 2018-18 (ST38/CTX-M27, ST69/CTX-M-1). De boom is gemaakt met behulp van Bionumerics software.



Figuur 3.6-2. ESBL-genen in ESBL-EC van deelnemers. De verschillende ESBL-genen zijn weergegeven met verschillende kleuren. In een klein deel van de isolaten werden geen van de onderzochte ESBL-genen aangetroffen, dit is weergegeven met "-".

In 2017 zijn de ESBL-genen van waterisolaten ook gekarakteriseerd om te vergelijken met de isolaten uit de deelnemers (figuur 3.6-3). Globaal was de verdeling van ESBL-genen tussen water- en zwimmers isolaten vergelijkbaar, met name de prevalentie van CTX-M-15 en CTX-M-27. In

acht gevallen werden in het water ESBL-genen aangetroffen die ook werden aangetroffen in een deelnemer die op dezelfde dag in dat water had gezwommen. Echter, met uitzondering van twee ST131 varianten was er geen overeenkomst in ESBL-EC sequentietypes tussen zwemmers en water (tabel 3.6-1). In beide gevallen dat er een ST131 met hetzelfde ESBL-gen werd aangetroffen in water en zwemmer was de zwemmer al drager van de ST131 voor deelname aan het evenement.



Figuur 3.6-3. ESBL-genen in ESBL-EC uit zwemmers en water. De staven geven de isolaten met de aangegeven ESBL-genen weer als percentage van respectievelijk alle water en deelnemer isolaten voor. Boven de staven staan de totale aantallen isolaten met de weergegeven genen.

Tabel 3.6-1. Vergelijkende analyse van ESBL-EC met overeenkomstige ESBL-genen uit zwemmers en uit het water waarin deze op dezelfde dag gezwommen hebben. De analyse is gebaseerd op adk-allel en sequentie type.

Nr.	BL-genen	Zwemmers Adk-allel (ST)	Water Adk-allel (ST)
1	CTX-M-1	6 (ST 155)	10 (na)
2	CTX-M-14	4 (ST 38); 10 (ST 744)	6 (na) ; 9 (na)
3	CTX-M-15 ^a	13 (ST 635)	4 (na); 10 (na); 53 (na)
4	CTX-M-15 ^a	10 (ST10, ST 34)	9 (na)
5	CTX-M-15/ TEM-1 ^a	21 (ST 69); 30 (ST 636); 53 (ST 131)	53 (ST 131)
6	CTX-M-15/TEM-1 ^a	10 (ST 10); 101 (ST 457)	4 (na)
7	CTX-M-27 ^a	6 (ST 1312)	14 (na), 53 (na)
8	CTX-M-27 ^a	53 (ST 131); 6 (ST 1312)	53 (ST 131); 4 (na); 101 (na)

Weergegeven zijn de allelnummers van de adk-genen (gebaseerd op de database op de MLST webpagina (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/mlst/dbs/Ecoli>) en tussen haakjes het sequentie type (ST), indien deze was geanalyseerd; ^aDe isolaten bij nummers 3/4, 5/6 en 7/8 hebben hetzelfde ESBL-gen maar betreffen een zwemmer/water koppel uit een ander evenement. na=niet geanalyseerd, BL=beta-lactamase.

4 Discussie en conclusies

ESBL-dragerschap is hoger bij open water zwemmers in vergelijking met de algemene bevolking

De onderzochte zwemmers waren ongeveer twee keer zo vaak drager van ESBL-EC dan eerder werd gevonden voor de algemene bevolking. Dit was óók het geval wanneer beide onderzoekspopulaties gestratificeerd werden naar overige risicofactoren, zoals reizen buiten de EU, ziekenhuisopname en beroepsmatig contact met patiënten. Deze stratificatie werd uitgevoerd omdat risicofactoren (en andere populatiekenmerken zoals geslacht en leeftijd) niet gelijk verdeeld waren over de twee onderzoekspopulaties. Deze bevinding toont daarmee aan dat zwemmen in open water een extra risicofactor is voor het verkrijgen van ESBL-EC dragerschap, naast de eerder geïdentificeerde risicofactoren (ESBLAT 2018).

De gemiddelde ESBL-EC concentraties in water waar zwemevenementen werden gehouden (1,7 kve/100ml) waren in de orde van grootte van wat eerder was gevonden op officiële zwemlocaties (1,3 kve/100ml) (Blaak et al. 2014). Met behulp van QMRA is geschat dat bij deze concentraties de gemiddelde kans op inname van een ESBL-EC per zwembegebeurtenis gelijk is aan 13% voor vrouwen, 16% voor mannen en 21% voor kinderen (Schijven et al. 2015). Deze kansen zijn tevens gebaseerd op data over zwemduur en inname van water tijdens zwemmen in zoet water, verzameld middels een enquête uitgevoerd onder een representatieve steekproef van 8000 Nederlanders (Schets et al. 2011).

De hier gevonden verhoogde prevalentie in zwemmers ten opzichte van de gewone bevolking en de door QMRA geschatte blootstellingkansen bevestigen dat oppervlaktewater een mogelijke bron is van blootstelling aan ESBL-EC voor zwemmers in Nederlands oppervlaktewater. De huidige bevindingen zijn daarnaast in overeenstemming met epidemiologische studies uitgevoerd in Noorwegen en Engeland, waarin respectievelijk recreatief zwemmen in zoet water als risicofactor was geïdentificeerd voor urineweginfectie met ESBL-*Enterobacteriaceae* (Soraas et al. 2013) en surfen in kustwater als risicofactor voor dragerschap van *bla*_{CTX-M}-positieve *E. coli* (Leonard et al. 2018).

Implicaties van verhoogde kans op dragerschap bij zwemmers

Zwemmen is een van de mogelijke routes waarlangs Nederlanders aan ESBL-EC blootgesteld kunnen worden. Uit data die verzameld zijn in het kader van de ESBLAT studie blijkt dat contact met andere mensen (direct of indirect, bijvoorbeeld via oppervlakken) het grootste risico op blootstelling aan ESBL-EC vormt. De totale bijdrage (attributie) van oppervlaktewater en wilde vogels aan humane ESBL-EC blootstelling werd geschat op 2,6% (95% BI: 0,2-8,7%) en was daarmee (een grote onzekerheid in acht nemend) net iets lager dan consumptie van rund- en kippenvlees en het oplopen van ESBL-EC tijdens reizen (Mughini-Gras et al. 2019). De totale attributie van zwemmen in open water aan ESBL-EC dragerschap wordt o.a. bepaald door hoeveel Nederlanders zwemmen in open water en is seizoenafhankelijk. Hoewel het met het

huidige onderzoek niet is bevestigd, is het aannemelijk dat de attributie tevens afhangt van het gemiddelde zwemmersgedrag van de open water zwemmers. Dat wil zeggen, de frequentie en duur van zwemmen (gerelateerd aan de kans op water binnenkrijgen) en het type water (gerelateerd aan de waterkwaliteit). Hoewel de attributie van blootstelling aan ESBL-EC via water vergeleken met blootstelling via contact met andere mensen relatief klein lijkt, zou vanwege de hoge diversiteit aan ESBL-EC die afkomstig zijn uit verschillende fecale bronnen (Schmitt et al. 2017), blootstelling via water een belangrijke rol kunnen spelen bij de introductie van nieuwe varianten in mensen.

Vergeleken met een eerder onderzoek naar open water zwemgedrag onder leden van de algemene bevolking (Schets et al. 2011) was er in de huidige onderzoeksgroep sprake van een overrepresentatie van zwemmers die zeer vaak in open water zwemmen en die langdurig zwemmen. In overeenstemming hiermee betrof een aanzienlijk deel van de zwemmers deelnemers van officiële open water zwemwedstrijden. Dit geeft aan dat er in de onderzochte zwemmersgroep waarschijnlijk een bias is naar meer sportieve zwemmers ten koste van meer recreatieve zwemmers. Daarnaast zwommen de zwemmers in de huidige studie vaker op niet-officiële zwemlocaties. Zwemmen in niet-officieel zwemwater zou mogelijk een hogere blootstelling aan ESBL-EC tot gevolg kunnen hebben dan zwemmen op officiële zwemlocaties, waar de waterkwaliteit gecontroleerd wordt. De kwaliteit van het onderzochte evenementenwater was weliswaar over het algemeen goed, maar dat is niet noodzakelijkwijs het geval voor alle niet-officiële zwemlocaties waarin gezwommen wordt. Ook moet er rekening gehouden worden met het feit dat voor deze analyses slechts één tot enkele metingen per water beschikbaar waren. De uitslag is daarom minder nauwkeurig dan voor metingen die gedaan worden op officiële zwemlocaties, en geeft alleen een momentopname weer zonder variatie in de tijd mee te wegen. Aan de andere kant is de waterkwaliteit op officiële zwemlocaties ook variabel, en verschilt de kwaliteitsklasse tussen officiële zwemlocaties van slecht/voldoende tot uitstekend.

Ondanks dat zwemmen in open water een verhoogd risico tot dragerschap met zich meebrengt, was er in de huidige studie geen associatie tussen specifiek zwemgedrag en dragerschap. Een mogelijke verklaring daarvoor is dat de meeste deelnemers frequent zwommen en grote afstanden per keer. De groep deelnemers die weinig en kortere afstanden zwemt is daarmee te klein om een verschil in ESBL-EC dragerschap te kunnen waarnemen tussen sportief en meer recreatief zwemgedrag. Een andere mogelijke verklaring is dat verschillende factoren meespelen die een tegengesteld effect op blootstelling kunnen hebben. Zo is het denkbaar dat vaker en langer zwemmen een hoger risico op blootstelling geeft dan minder vaak of kort zwemmen. Aan de andere kant is het denkbaar dat mensen die vaker en langer zwemmen een betere techniek hebben waardoor ze minder water binnen krijgen (en hiermee ESBL-EC).

Dragerschap in de zwemmersstudie in relatie tot andere bevolkingsonderzoeken

Bij het vergelijken van prevalenties van ESBL-producerende bacteriën die gevonden zijn in verschillende studies moet rekening gehouden worden met eventuele verschillen in de gebruikte methodiek voor de detectie van deze bacteriën. In zowel de ESBLAT-studie als in de huidige studie is gebruik gemaakt van dezelfde ophopingstechniek in hetzelfde medium (LB met 1 µg/ml cefotaxime). Hierdoor is de gevoeligheid van beide studies vergelijkbaar. Echter, in tegenstelling tot de zwemmersstudie is bij de ESBLAT-studie niet alleen de aanwezigheid van ESBL-EC onderzocht, maar ook dat van andere *Enterobacteriaceae* (ESBL-E). Daarnaast zijn ook AmpC-E meegenomen in de analyse. Omdat in de ESBLAT-studie de definitie van ESBL ruimer is genomen dan in de huidige studie is het verschil in prevalentie tussen beide onderzoeksgroepen in werkelijkheid waarschijnlijk nog iets groter.

De in de ESBLAT-studie gevonden prevalentie van ESBL-E van 4,5% was hetzelfde als de prevalentie die in ander onderzoek aangetoond is bij volwassen Nederlanders: 4,5% van de ouders in een familieonderzoek (van den Bunt et al. 2017) en 4,5% van mensen die in de omgeving van boerderijen wonen (Wielders et al. 2017). In een studie uitgevoerd bij bezoekers van huisartspraktijken in Amsterdam was de prevalentie hoger: 8,6% ESBL-E (Reuland et al. 2016). De relatief hoge prevalentie in die onderzoekspopulatie kan mogelijk verklaard worden door een afwijkende demografie t.o.v. de algemene bevolking, of door een afwijkende gezondheid van huisartsenbezoekers t.o.v. de algemene bevolking. Uit onderzoek naar specifieke bevolkingsgroepen in Nederland bleek ESBL-E dragerschap relatief zeer hoog (34%) onder mensen die terugkomen van een reis in het buitenland, met name Zuid-Azië (Arcilla et al. 2017) en in mensen die werken op een kippenboerderij: 27% (Huijbers et al. 2014). Werken met varkens, als boer (6%) of in een slachthuis tijdens werkzaamheden met hoge blootstelling aan ingewanden (11%) lijkt ook geassocieerd met (licht) verhoogd dragerschap (Dohmen et al. 2015, Dohmen et al. 2017).

Andere eerder geïdentificeerde risicofactoren voor ESBL-EC dragerschap zijn antibioticagebruik (Reuland et al. 2016), gebruik van protonpompremmers (Reuland et al. 2016, Wielders et al. 2017), en het hebben van kinderen op een kinderdagverblijf (van den Bunt et al. 2017). Naast zwemmen in open water waren in de huidige studiepopulatie geïdentificeerde risicofactoren voor ESBL-EC dragerschap reizen buiten de EU en beroepsmatig contact met patiënten. Antibioticagebruik en contact met (landbouwhuis)dieren waren in deze groep geen risicofactoren en er werd een zwakke, niet significante associatie gevonden met ziekenhuisopname.

Deelname aan één zwemevenement beïnvloedt dragerschap niet

Er was geen effect van deelname aan het zwemevenement op dragerschap: de prevalentie voor en na deelname aan een evenement was nagenoeg hetzelfde. Een waarschijnlijke verklaring hiervoor is dat de meeste deelnemers vaker zwemmen in open water: bij 89% van de deelnemers was van te voren gezwommen of getraind in open water. Voor deze zwemmers zal het specifieke zwemevenement nauwelijks bijdragen aan de kans op blootstelling via water (namelijk, het gaat om

één extra zwemgebeurtenis). Daarnaast wordt de kans op blootstelling tijdens het evenement gemaskeerd door het feit dat een deel van de zwemmers de ESBL-EC vanzelf ook weer verliezen. Bij gezonde dragers gebeurt dit binnen enkele weken tot maanden (Arcilla et al. 2017). Zwemmers die bij de eerste monsternamen ESBL-EC positief waren kunnen dat ook al enige tijd geweest zijn. Het aantal deelnemers dat de ESBL-EC kwijt was geraakt na het evenement, was nagenoeg even groot als het aantal deelnemers dat ESBL-EC drager was geworden na het evenement. De korte tijd tussen het positieve en negatieve monster, en tussen zwemevenement en positief monster, maakt het aannemelijk dat het zwemmen tijdens het evenement een waarschijnlijke blootstellingsbron is geweest voor de mensen die van negatief naar positief converteren. Echter, omdat beide typen conversies ondanks andere mechanismen tegelijk van kracht zijn en (toevallig) met een zelfde frequentie, is het netto resultaat dat er na een evenement niet meer zwemmers drager zijn dan daarvoor. Naast tien zwemmers die van ESBL-EC-negatief naar ESBL-EC positief converteerden, was er bij twee deelnemers (door één zwemmer) sprake van een conversie van ESBL-EC type. Ook deze gebeurtenis kan duiden op een inname tijdens een evenement. Hiermee was bij in totaal 12 (4,7%) van de deelnemers mogelijk sprake van inname van (gevolgd door kolonisatie met) ESBL-EC tijdens een zwemevenement. Dit getal is in de orde van grootte van de door middel van QMRA geschatte innamekans voor volwassenen (13-16%) gebaseerd op vergelijkbare ESBL-EC concentraties in het water, wanneer in acht wordt genomen dat niet elke inname hoeft te leiden tot kolonisatie.

De afwezigheid van een effect van deelname aan een evenement aan dragerschap was in overeenstemming met de afwezigheid van een duidelijk effect van zwemgedrag tijdens het evenement en dragerschap na het evenement. Er was een (significant) lagere prevalentie onder mensen die alleen borstcrawl gebruikten als zwemslag. Dit zou kunnen duiden op een negatieve correlatie tussen blootstelling en zwemervaring. Vaak waren subgroepen echter klein, waardoor ook gebrek aan statistische kracht een onderliggende reden kan zijn van de afwezigheid van statistisch significante associaties tussen zwemgedrag en dragerschap.

Waterkwaliteit bij zwemevenementen is doorgaans goed.

In tegenstelling tot de *a priori* verwachtingen voldeed het water in vele gevallen aan dat op officiële zwemlocaties van goede tot uitstekende kwaliteit (met de kanttekening dat er eigenlijk te weinig monsters zijn genomen voor een goede classificering). Hoewel niet alle locaties zijn onderzocht op *E. coli* en ESBL-EC aantallen, zijn de hier geteste wateren representatief voor het evenementenwater in de huidige studie, omdat bijna driekwart van de deelnemers in de onderzochte wateren heeft gezwommen. In een enkel geval lagen de *E. coli* concentraties hoger dan de signaleringswaarde die geldt voor officiële zwemlocaties. Bij de meeste city swims wordt waterkwaliteit gemonitord door het waterschap (op initiatief van de organisatie) en wordt in het algemeen gehoor gegeven aan het advies van het waterschap om af te gelasten als de waterkwaliteit onvoldoende is. Bij open water zwemwedstrijden wordt daarentegen de waterkwaliteit meestal niet gemonitord.

ESBL-EC typen in water en zwemmers: grote diversiteit

De typen ESBL-EC die in het evenementenwater werden aangetroffen op de dag van het evenement werden niet teruggevonden in de deelnemers. De enige varianten die overeenkwamen tussen water en zwemmers waren een ST131/CTX-M-15 en een ST131/CTX-M27 variant. In beide gevallen hadden de deelnemers deze variant al voor deelname aan het zwemevenement waarvan het water de variant bevatte, wat aangeeft dat het evenement waarschijnlijk niet de bron was. ST131 (meestal in combinatie met CTX-M-15, maar ook met CTX-M-27) is een veelvoorkomend ST bij humane ESBL-EC isolaten (Coque et al. 2008, Nicolas-Chanoine et al. 2008, Reuland et al. 2016, van Duijkeren et al. 2018). De bron van deze varianten kan zowel andere mensen als water zijn geweest. Uit eerder onderzoek bleken beiden frequent voor te komen in humaan afvalwater, wat een belangrijke bron is van ESBL-EC in Nederlands oppervlaktewater (Blaak et al. 2018). Onder 514 isolaten afkomstig uit effluent van 100 RWZIs in 2016, was 12% en 7% van alle isolaten respectievelijk ST131/CTX-M-15 en ST131/CTX-M-27 (H. Blaak, niet gepubliceerde data).

Het gebrek aan overeenkomst van ESBL-EC typen in water en zwemmers na afloop van een evenement vormt geen bewijs dat converteerders geen drager zijn geworden door blootstelling aan het water. De variatie aan ESBL-EC was in een aantal van de wateren zeer groot (data niet weergegeven), waardoor de 'pakkans' van een willekeurig (door een zwemmer ingeslikt) type erg klein is. Typering van isolaten is daarom waarschijnlijk niet een heel geschikte methode om oppervlaktewater als blootstellingsbron te identificeren ('source tracking').

Conclusie en aanbevelingen

Mensen die regelmatig in open water zwemmen zijn vaker drager van ESBL-EC dan de open bevolking. Dit geeft aan dat zwemmen een risicofactor is voor dragerschap van ESBL-EC. Voor gezonde mensen is de kans klein dat dragerschap van ESBL-EC resulteert in een infectie die moeilijk te behandelen is. Echter, dragers kunnen ESBL-EC wel direct of indirect, overdragen aan andere mensen, waaronder mogelijk kwetsbaardere personen die dan niet (goed) behandeld kunnen worden. Ook kan water vanwege de hoge diversiteit aan ESBL-EC die afkomstig zijn uit verschillende fecale bronnen, mogelijk een belangrijke rol spelen bij de introductie van nieuwe varianten in mensen. Het is daarom belangrijk de verspreiding van en blootstelling aan ESBL-EC via open water te beperken.

Zowel open water zwemmers zelf als organisatoren van open water zwemevenementen kunnen bijdragen aan een beperking van de blootstelling van zwemmers aan ESBL-EC. Het wordt aanbevolen om zwemmers te informeren over de risico's die verbonden zijn aan zwemmen in open water, en hen te adviseren te zwemmen op officiële zwemlocaties zoals gedefinieerd in de Europese zwemwaterrichtlijn. Door te zwemmen in water waarvan de microbiologische kwaliteit onderzocht wordt en aan de Europese richtlijnen voldoet wordt de kans op blootstelling aan micro-organismen, waaronder antibioticaresistente bacteriën geminimaliseerd.

Organisatoren van zwemevenementen wordt aanbevolen te onderzoeken in welke mate het zwemparcours beïnvloedt wordt door bronnen van fecale besmettingen zoals lozingen van afvalwaterzuiveringsinstallaties of riooloverstorten (die plaats kunnen vinden als er sprake is van hevige regen vlak voor het evenement). Daarnaast wordt aanbevolen de waterkwaliteit van het gekozen water vlak voor het evenement te laten vaststellen, en deelnemers hierover te informeren. Bij onvoldoende waterkwaliteit dient het aanbeveling om het evenement af te gelasten. Bij meerdere city swims worden deze maatregelen al uitgevoerd. Het verdient aanbeveling om op nationaal niveau in dialoog met waterbeheerders en organisatoren van zwemevenementen, genoemde maatregelen te formuleren in een eenduidig advies om veilig evenementenwater te waarborgen. Hierin moeten dan naast de hier geduide risico's met betrekking tot resistente bacteriën ook ziekteverwekkende micro-organismen (pathogenen) worden opgenomen.

Ook een reductie van aanvoer van resistente fecale bacteriën naar oppervlaktewater kan leiden tot minder menselijke blootstelling hieraan tijdens zwemmen en overige recreatie in oppervlaktewater. In het kader van de "ketenaanpak medicijnresten" wordt onderzocht of nazuivering van afvalwater een geschikte maatregel is voor het terugdringen van de lozingen van geneesmiddelen naar oppervlaktewater. Het dient aanbeveling te onderzoeken of de binnen het kader van deze aanpak als meest doelmatig geïdentificeerde technieken van geavanceerde zuivering tevens geschikt zijn om de lozingen van resistente bacteriën te verminderen.

Om de invloed van besmetting van het milieu met resistente bacteriën beter te kunnen duiden, verdient het ten slotte aanbeveling om aanvullend onderzoek te doen naar dragerschap bij mensen die slechts af en toe in Nederlands open water recreëren en minder intensief zwemmen dan de huidig onderzochte studiegroep. Ook wordt onderzoek naar blootstelling via andere watersporten aanbevolen, zoals bijvoorbeeld tijdens (kite)surfen, kanoën of duiken, omdat ook deze sporten vaak in niet officieel zwemwater uitgeoefend worden.

5 Dankwoord

Met dank aan: alle zwemmers! En aan alle zwemevenementorganisaties die zich hebben ingezet om hun zwemmers te informeren over het onderzoek: in 2017 & 2018: Amsterdam City Swim, De Vrije slag door Zutphen, Dudok City Swim Dordrecht, Swim to Fight Cancer Hoorn/ Ter rede van Hoorn; in 2017: Hiawatha City Swim Zwolle; in 2018: A local Swim Almelo, 6^e Biesbosch openwater race, Brakeboer trofee, City Swim Groningen, Dishoek-Zoutelande, Ganzetrek #46, Golfbad Osse Maasrace , Goudse Singel Swim, IJsselmeer zwemmarathon, 47^e kanaal race, Oww de Binnenmaas, Oww Oude Veer, Owz Merwedekanaal, Rondje Pampus, Swim-in-Leiden, Swim to Fight Cancer Eindhoven, Swim to Fight Cancer Hollands Kroon, The great lake swim, Oostkapelle-Domburg, Overschie Unltd Swim, Westkapelle-Zoutelande, Zwemmeland, Zwemtocht Vlissingen-Zoutelande en Zwem2mijl. Daarnaast aan de beheerders van www.now.nl voor het meedenken en plaatsen van een oproep op hun webpagina in 2017 en 2018.

Tenslotte gaat onze dank uit naar Waternet, waterschap Hunze en Aas, en de waterlaboratoria Aquon, Aqualyisis en Aqualab-Zuid, voor het belangeloos nemen van extra watermonsters ten behoeve van ons onderzoek.

6 Referenties

Anonymous (2006) Directive 2006/7/EC of the European Parliament and of the Council of 15 February 2006 concerning the management of bathing water quality and repealing directive 76/160/EEC Official Journal of the European Union L64, 37-51.

Anonymous (2007) NEN-EN-ISO 19458. Water quality - Sampling for microbiological analysis.

Anonymous (2018) NEN-EN-ISO 8199 Water quality - General requirements and guidance for microbiological examinations by culture.

Arcilla, M.S., van Hattem, J.M., Haverkate, M.R., Bootsma, M.C.J., van Genderen, P.J.J., Goorhuis, A., Grobusch, M.P., Lashof, A.M.O., Molhoek, N., Schultsz, C., Stobberingh, E.E., Verbrugh, H.A., de Jong, M.D., Melles, D.C. and Penders, J. (2017) Import and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis* 17(1), 78-85.

Bevan, E.R., Jones, A.M. and Hawkey, P.M. (2017) Global epidemiology of CTX-M beta-lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *J Antimicrob Chemother* 72(8), 2145-2155.

Blaak, H., de Kruijf, P., Hamidjaja, R.A., van Hoek, A.H.A.M., de Roda Husman, A.M. and Schets, F.M. (2014) Prevalence and characteristics of ESBL-producing *E. coli* in Dutch recreational waters influenced by wastewater treatment plants. *Vet Microbiol* 171(3-4), 448-459.

Blaak, H., Schilperoort, R. and Schmitt, H. (2018) Rol van afvalwater bij verspreiding van antibioticaresistente. ESBL-producerende *Escherichia coli* en ampicillineresistente *Enterococcus faecium* in oppervlaktewater. STOWA RIONED rapport 2018-11.

Cameron, A.C., Gelbach, J.B. and Miller, D.L. (2006) Robust inference with multi-way clustering. NBER Technical Working Paper no. 37.

Cantón, R., Akóva, M., Carmeli, Y., Giske, C.G., Glupczynski, Y., Gniadkowski, M., Livermore, D.M., Miriagou, V., Naas, T., Rossolini, G.M., Samuelsen, O., Seifert, H., Woodford, N. and Nordmann, P. (2012) Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 18(5), 413-431.

Cantón, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F. and Coque, T.M. (2008) Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl. 1, 144-153.

Carattoli, A., Garcia-Fernandez, A., Varesi, P., Fortini, D., Gerardi, S., Penni, A., Mancini, C. and Giordano, A. (2008) Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases isolated in Rome, Italy. *J Clin Microbiol* 46(1), 103-108.

Castanheira, M., Mendes, R.E., Rhomberg, P.R. and Jones, R.N. (2008) Rapid emergence of *bla*_{CTX-M} among Enterobacteriaceae in U.S. Medical

Centers: molecular evaluation from the MYSTIC Program (2007). *Microb Drug Resist* 14(3), 211-216.

Coque, T.M., Novais, A., Carattoli, A., Poirel, L., Pitout, J., Peixe, L., Baquero, F., Canton, R. and Nordmann, P. (2008) Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis* 14(2), 195-200.

Dallenne, C., Da Costa, A., Decré, D., Favier, C. and Arlet, G. (2010) Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 65(3), 490-495.

Dierikx, C., van der Goot, J., Fabri, T., van Essen-Zandbergen, A., Smith, H. and Mevius, D. (2013) Extended-spectrum-beta-lactamase- and AmpC-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch broilers and broiler farmers. *J Antimicrob Chemother* 68(1), 60-67.

Dohmen, W., Bonten, M.J., Bos, M.E., van Marm, S., Scharringa, J., Wagenaar, J.A. and Heederik, D.J. (2015) Carriage of extended-spectrum beta-lactamases in pig farmers is associated with occurrence in pigs. *Clin Microbiol Infect* 21(10), 917-923.

Dohmen, W., L, V.A.N.G., Schmitt, H., Liakopoulos, A., Heres, L., Urlings, B.A., Mevius, D., Bonten, M.J.M. and Heederik, D.J.J. (2017) ESBL carriage in pig slaughterhouse workers is associated with occupational exposure. *Epidemiol Infect* 145(10), 2003-2010.

Dorado-Garcia, A., Smid, J.H., van Pelt, W., Bonten, M.J.M., Fluit, A.C., van den Bunt, G., Wagenaar, J.A., Hordijk, J., Dierikx, C.M., Veldman, K.T., de Koeijer, A., Dohmen, W., Schmitt, H., Liakopoulos, A., Pacholewicz, E., Lam, T., Velthuis, A.G., Heuvelink, A., Gonggrijp, M.A., van Duijkeren, E., van Hoek, A., de Roda Husman, A.M., Blaak, H., Havelaar, A.H., Mevius, D.J. and Heederik, D.J.J. (2018) Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *J Antimicrob Chemother* 73(2), 339-347.

ESBLAT (2018) Rapport ESBL-Attributieanalyse (ESBLAT). Op zoek naar de bronnen van antibioticaresistentie bij de mens. Projectnummer Topsector TKI-AF 12067. Mevius, D., Heederik, D. and van Duijkeren, E. (eds).

Hagenaars, T., Hoeksma, P., de Roda Husman, A.M., Swart, A. and Wouters, I. (2017) Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (aanvullende studies). Analyse van gezondheidseffecten, risicofactoren en uitstoot van bioaerosolen. RIVM Rapport 2017-0062.

Haverkate, M.R., Platteel, T.N., Fluit, A.C., Cohen Stuart, J.W., Leverstein-van Hall, M.A., Thijsen, S.F.T., Scharringa, J., Kloosterman, R.C., Bonten, M.J.M. and Bootsma, M.C.J. (2017) Quantifying within-household transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria. *Clin Microbiol Infect* 23(1), 46 e41-46 e47.

Hintaran, A.D., Kliffen, S.J., Lodder, W., Pijnacker, R., Brandwagt, D., van der Bij, A.K., Siedenburg, E., Sonder, G.J.B., Fanoy, E.B. and Joosten, R.E. (2018) Infection risks of city canal swimming events in the Netherlands in 2016. *PLoS One* 13(7), e0200616.

- Huijbers, P.M., de Kraker, M., Graat, E.A., van Hoek, A.H., van Santen, M.G., de Jong, M.C., van Duijkeren, E. and de Greeff, S.C. (2013) Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in humans living in municipalities with high and low broiler density. *Clin Microbiol Infect* 19(6), E256-259.
- Huijbers, P.M., Graat, E.A., Haenen, A.P., van Santen, M.G., van Essen-Zandbergen, A., Mevius, D.J., van Duijkeren, E. and van Hoek, A.H. (2014) Extended-spectrum and AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics. *J Antimicrob Chemother* 69(10), 2669-2675.
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. and Mobley, H.L. (2004) Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2(2), 123-140.
- Leonard, A.F.C., Zhang, L., Balfour, A.J., Garside, R., Hawkey, P.M., Murray, A.K., Ukoumunne, O.C. and Gaze, W.H. (2018) Exposure to and colonisation by antibiotic-resistant *E. coli* in UK coastal water users: Environmental surveillance, exposure assessment, and epidemiological study (Beach Bum Survey). *Environ Int* 114, 326-333.
- Livermore, D.M., Canton, R., Gniadkowski, M., Nordmann, P., Rossolini, G.M., Arlet, G., Ayala, J., Coque, T.M., Kern-Zdanowicz, I., Luzzaro, F., Poirel, L. and Woodford, N. (2007) CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 59(2), 165-174.
- MARAN (2018) Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in the Netherlands in 2017. Available: <https://www.wur.nl/nl/Onderzoek-Resultaten/Onderzoeksinstituten/Bioveterinary-Research/Publicaties/MARAN-rapporten-antibioticaresistentie.htm>.
- Veldman, K.T., Mevius, D.J., Wit, B., van Pelt, W. and Heederik, D. (eds).
- Mughini-Gras, L., Dorado-Garcia, A., van Duijkeren, E., van den Bunt, G., Dierikx, C.M., Bonten, M.J.M., Bootsma, M.C.J., Schmitt, H., Hald, T., Evers, E.G., de Koeijer, A., van Pelt, W., Franz, E., Mevius, D.J., Heederik, D.J.J. and Consortium, E.A. (2019) Attributable sources of community-acquired carriage of *Escherichia coli* containing beta-lactam antibiotic resistance genes: a population-based modelling study. *Lancet Planet Health* 3(8), e357-e369.
- Nicolas-Chanoine, M.H., Blanco, J., Leflon-Guibout, V., Demarty, R., Alonso, M.P., Canica, M.M., Park, Y.J., Lavigne, J.P., Pitout, J. and Johnson, J.R. (2008) Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 61(2), 273-281.
- Olesen, I., Hasman, H. and Aarestrup, F.M. (2004) Prevalence of beta-lactamases among ampicillin-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from food animals in Denmark. *Microb Drug Resist* 10(4), 334-340.
- Paauw, A., Fluit, A.C., Verhoef, J. and Leverstein-van Hall, M.A. (2006) *Enterobacter cloacae* outbreak and emergence of quinolone resistance gene in Dutch hospital. *Emerg Infect Dis* 12(5), 807-812.

- Paterson, D.L. and Bonomo, R.A. (2005) Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 18(4), 657-686.
- Reuland, E.A., Al Naiemi, N., Kaiser, A.M., Heck, M., Kluytmans, J.A., Savelkoul, P.H., Elders, P.J. and Vandenbroucke-Grauls, C.M. (2016) Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. *J Antimicrob Chemother* 71(4), 1076-1082.
- Schets, F.M., Schijven, J.F. and de Roda Husman, A.M. (2011) Exposure assessment for swimmers in bathing waters and swimming pools. *Water Res* 45(7), 2392-2400.
- Schets, F.M., van Wijnen, J.H., Schijven, J.F., Schoon, H. and de Roda Husman, A.M. (2008) Monitoring of waterborne pathogens in surface waters in Amsterdam, the Netherlands, and the potential health risk associated with exposure to cryptosporidium and giardia in these waters. *Appl Environ Microbiol* 74(7), 2069-2078.
- Schijven, J.F., Blaak, H., Schets, F.M. and de Roda Husman, A.M. (2015) Fate of Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Faecal Sources in Surface Water and Probability of Human Exposure through Swimming. *Environ Sci Technol* 49(19), 11825-11833.
- Schmitt, H., Blaak, H., Kemper, M., van Passel, M., Hierink, F., van Leuken, J., De Roda Husman, A.M., van der Grinten, E., Rutgers, M., Schijven, J., De Man, H., Hoeksma, P. and Zuidema, T. (2017) Bronnen van antibioticaresistente bacteriën in het milieu en mogelijke maatregelen. RIVM Rapport 2017-0085.
- Soraas, A., Sundsfjord, A., Sandven, I., Brunborg, C. and Jenum, P.A. (2013) Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing enterobacteriaceae--a case-control study in a low prevalence country. *PLoS One* 8(7), e69581.
- Thompson, S.B. (2011) Simple formulas for standard errors that cluster by both firm and time. *Journal of Financial Economics* 99, 1-10.
- van den Bunt, G., Liakopoulos, A., Mevius, D.J., Geurts, Y., Fluit, A.C., Bonten, M.J., Mughini-Gras, L. and van Pelt, W. (2017) ESBL/AmpC-producing Enterobacteriaceae in households with children of preschool age: prevalence, risk factors and co-carriage. *J Antimicrob Chemother* 72(2), 589-595.
- van Duijkeren, E., Wielders, C.C.H., Dierikx, C.M., van Hoek, A., Hengeveld, P., Veenman, C., Florijn, A., Lotterman, A., Smit, L.A.M., van Dissel, J.T., Maassen, C.B.M. and de Greeff, S.C. (2018) Long-term Carriage of Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in the General Population in The Netherlands. *Clin Infect Dis* 66(9), 1368-1376.
- Wielders, C.C.H., van Hoek, A., Hengeveld, P.D., Veenman, C., Dierikx, C.M., Zomer, T.P., Smit, L.A.M., van der Hoek, W., Heederik, D.J., de Greeff, S.C., Maassen, C.B.M. and van Duijkeren, E. (2017) Extended-spectrum beta-lactamase- and pAmpC-producing Enterobacteriaceae among the general population in a livestock-dense area. *Clin Microbiol Infect* 23(2), 120 e121-120 e128.

Wirth, T., Falush, D., Lan, R., Colles, F., Mensa, P., Wieler, L.H., Karch, H., Reeves, P.R., Maiden, M.C., Ochman, H. and Achtman, M. (2006) Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Mol Microbiol* 60(5), 1136-1151.

Zhang, L. and Foxman, B. (2003) Molecular epidemiology of *Escherichia coli* mediated urinary tract infections. *Front Biosci* 8, e235-244.

7 Bijlagen

7.1 Zwemevenementen

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
010 City Swim	Rotterdam		1-7-2018	JA ('18)	NEE		2	Stadsdriehoek	
11 jaar Rotterdam Swim	Rotterdam		29-7-2018	JA ('18)	JA/NEE*			Nieuwe Maas, rond het Noordereiland	
11stedenzwemtocht	11 steden Friesland		18 tm 20- 8-2018	JA ('18)	JA/NEE*		3	Langs de 11 steden	Afgelast vanwege slechte waterkwaliteit
47e kanaalrace	Vlissingen		2-9-2018	JA ('18)	JA		1*	Kanaal door Walcheren	Is één aanmelding met aanmelding voor Ganzetrek #46
6e Biesbosch open water race	Sleeuwijk		8-9-2018	JA ('18)	JA			naamloos water (bij Kooikamp en Vijcie)	
A local swim Almelo	Almelo		14-9-2018	JA ('18)	JA		3	Stadswater	
A local Swim Assen	Assen	3-9-2017	-	NEE	NEE	2		Havenkanaal	
A Local Swim Lemmer	Lemmer		8-9-2018	JA ('18)	NEE		1	het Dok	
A Local Swim Schagen	Schagen		8-7-2018	JA ('18)	NEE			Haven van Schagen	
A Local Swim Westland	de Lier		11-8-2018	JA ('18)	NEE			de Lee	
Amsterdam City Swim	Amsterdam		9-9-2018	JA ('17, '18)	JA	51	38	Stadsgrachten	Afgelast in 2018 vanwege slechte waterkwaliteit
Bosbaan triathlon	Amsterdam		28-9-2018	NEE	NEE		1	Bosbaan	
Bosbaanswim	Amsterdam		25-8-2018	NEE	NEE		2	de Bosbaan	
Brakeboer Trofee	Medemblik		22-7-2018	JA ('18)	JA			Haven en kust van Medemblik	

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
Branders zwemtocht	Schiedam		29-9-2018	JA ('18)	NEE		2	Stadsgrachten	
BZ&PC Open Water Zwemwedstrijd	Bodegraven		23-6-2018	NEE	NEE		1	Oude Rijn Bodegraven	
Caspar de Robles zeezwemtocht 5km in de Waddenzee	Harlingen		15-7-2018	NEE	NEE		1	Waddenzee	
City Swim Meppel	Meppel		10-6-2018	NEE	NEE			Stadsgrachten	
Cursus open water zwemmen (6 weken)	Amsterdam		18-7-18 (ea)	n.v.t.	n.v.t.		1	Sloterplas	Deels verplaatst naar Gaasperplas vanwege blauwalg
De nautische mijl van Dokkum	Dokkum		9-9-2018	NEE	NEE		1	Stadsgrachten	
De vrije slag door Grolle	Groenlo		23-6-2018	JA ('18)	JA/NEE*			Stadsgracht	
De vrije slag door Zupthen - Berkel	Zupthen	19-8- 2017	18-8-2018	JA ('17, '18)	JA	10	11	de Berkel	
De vrije slag door Zupthen -IJssel	Zupthen	20-8- 2017	19-8-2018	JA ('17)	JA	7		IJssel	Ging in 2018 niet door vanwege vergunning problemen
Dopharma open water klassieker Oosterhout	Oosterhout		26-8-2018	JA ('18)	NEE		2	Wilhelmina kanaal	
Dudok City Swim Dordrecht (Swim to fight cancer Dordrecht)	Dordrecht	26-8- 2017	1-9-2018	JA ('17, '18)	JA	17	36	Stadsgrachten	
Ganzetrek #46	Wilhelminadorp		1-9-2018	JA ('18)	JA		1	Kanaal naar Goes	Is één aanmelding met aanmelding voor 47e kanaalrace

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
Golfbad Osse maasrace	Oss		15-9-2018	JA ('18)	JA			De Lithse Ham	
Goudse singel swim	Gouda		9-9-2018	JA ('18)	JA		1	Stadsingel	Afgelast in 2018 vanwege slechte waterkwaliteit
Grindgat open water event Maastricht	Eijsden		22-9-2018	JA ('18)	NEE		1	Grindgat Oost- Maarland	
GUV triathlon Aalten	Aalten		17-6-2018	NEE	NEE		1	Slingeplas Bredevoort	
Haringvliet oversteek	Hellevoetsluis		8-9-2018	JA ('18)	NEE			Haringvliet	
Havenwedstrijden Breskens	Breskens		4-8-2018	JA ('18)	NEE			Haven van Breskens	
Hiawatha City Swim Zwolle	Zwolle	26-8- 2017	25-8-2018	JA ('17, '18)	JA ('17), NEE ('18)	23	2	Stadsgrachten	
Halve triathlon Almere	Almere		8-9-2018	JA ('18)	NEE		2	Weerwater	
IJsselmeer zwemmarathon	Stavoren		11-8-2018	JA ('18)	JA			IJsselmeer Stavoren - Medemblik	
IJsselmeertocht - onofficieel	<i>onbekend</i>		15-8-2018	n.v.t.	n.v.t.		1	IJsselmeer	
IJ-swim 2018	Amsterdam		9-9-2018	JA ('18)	NEE		2	het IJ	
IJzerenman zwemrace	Vught		9-9-2018	NEE	NEE		1	de IJzeren man	
Kwartje triatlon Anna Paulowna	Anna Paulowna		25-8-2018	NEE	NEE		1	Jachthaven Anna Paulowna	
Lektocht	Beusichem		8-7-2018	JA ('18)	NEE		1	de Lek Beusichem - Culemborg	
Love swim	Amsterdam		3-8-2018	JA ('18)	JA		4	de Amstel	
Natuurzwemtocht	Breukelen		19-8-2018	NEE	NEE		1	Loosdrechtse plassen	

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
ONK Bosbaan (verplaatst naar Heerjansdam)	Amsterdam		29-7-2018	JA ('18)	NEE		3	de Bosbaan	Verplaatst naar Heerjansdam vanwege blauwalg
Oostkapelle- Domburg	Oostkappelle		22-8-2018	JA ('18)	JA			Noordzee	
Open water polo toernooi singel woerden	Woerden		1-9-2018	NEE	NEE		1	Stadsingel	
Open water wedstrijd sluis	Sluis		1-7-2018	NEE	NEE			Kanaal Hoeke-Sluis	
Oude IJssel zwemtocht	Empe		10-6-2018	NEE	NEE			Oude IJssel	
Oww de Binnenmaas	Mijnsheerenland		14-7-2018	JA ('18)	JA		1*	de Binnenmaas	Aanmelding valt samen met een van Great lake swim
Oww Heerjansdam	Heerjansdam		18-8-2018	NEE	NEE		2	t Waaltje	Afgelast in 2018 vanwege blauwalg
Oww Oude Veer	Anna Paulowna		16-9-2018	JA ('18)	JA			Het Oude Veer	
Owz	Vianen		8-7-2018	JA ('18)	JA		1	Merwedekanaal	
Merwedekanaal									
Poeloversteek	Aalsmeer		27-6-2018	NEE	NEE		1	Westeinderplassen	
Rijntocht en crosstriathlon	Renkum		26-8-2018	JA ('18)	NEE		1	Aalsmeer-Leimuiden de Rijn	
Roermond City Swim	Roermond		25-8-2018	JA ('18)	NEE		2	de Roer en de Maas	
Rondje eilanden Vinkeveen	Vinkeveen		21-7-2018	JA ('18)	NEE		1	Vinkeveense plassen	
Rondje Pampus	Muiden		26-8-2018	JA ('18)	JA		4	IJsselmeer	
SingelSwim Utrecht	Utrecht		17-6-2018	JA ('18)	NEE		1	Maliesingel	

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
Singelzwemtocht	Breda		12-8-2018	NEE	NEE		1	Stadssingel	Ging niet door in 2018
Swim challenge / City Swim Groningen	Groningen		25-8-2018	JA ('18)	JA		15	Reitdiep / stadsgrachten	
Swim to fight cancer Apeldoorn	Apeldoorn		16-9-2018	JA ('17, '18)	NEE		1	Apeldoornskanaal	
Swim to fight cancer Delft	Delft	27-8- 2017	-	JA ('17)	NEE			Rijn-Schiekanaal	
Swim to fight cancer Den Bosch	Den Bosch	17-9- 2017	-	JA ('17)	NEE	1		Singelgracht en de Dommel	
Swim to fight cancer Doetinchem	Doetinchem		9-9-2018	JA ('17, '18)	NEE			Oude IJssel	
Swim to fight cancer Eindhoven	Eindhoven	20-8- 2017	16-9-2018	JA ('17, '18)	NEE ('17), JA ('18)		1	Eindhovens Kanaal	
Swim to fight cancer Haarlem	Haarlem		16-9-2018	JA ('18)	NEE		5	Het Spaarne en grachten	
Swim to fight cancer Hollands Kroon	Anna Paulowna		16-9-2018	JA ('18)	JA			Het Oude Veer	
Swim to fight cancer Hoorn ('17)/ Ter rede van Hoorn ('18)	Hoorn		21-7-2018	JA ('17, '18)	JA	8	2	Havens van hoorn	
Swim to fight cancer Maastricht	Maastricht		26-8-2018	NEE	NEE			de Maas	
Swim to fight cancer Nijmegen	Nijmegen		9-9-2018	JA ('18)	NEE			Spiegelwaal	
Swim to fight cancer Stichtse Vecht	Breukelen		2-9-2018	JA ('18)	NEE		3	de Vecht	

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
Swim to fight cancer Tilburg	Tilburg		26-8-2018	JA ('18)	NEE		1	Piushaven	
Swim-in-leiden	Leiden		29-6-2018	JA ('18)	JA		5	Witte Singel	
Swimrun Lauersoog	Lauersoog		22-9-2018	NEE	NEE		2	Lauwersmeer	
The Great Lake Swim	Amsterdam		15-7-2018	JA ('18)	JA		3	Gaasperplas	Eén aanmelding valt samen met oww Binnenmaas
Triathlon Enschede	Enschede		19-8-2018	NEE	NEE		1	Naamloos watertje (bij Hallenweg)	
Triathlon Maarssen	Maarssen		1-9-2018	NEE	NEE		1	Maarsseveense plassen	
Triathlon Noordoostpolder	Emmeloord		26-8-2018	NEE	NEE		1	Zwolsevaart	
Triathlon Oudkerkerplas	Amsterdam		18-8-2018	NEE	NEE		1	Oudkerkerplas	
Triathlon Veenendaal	Veenendaal		25-8-2018	NEE	NEE		1	De surfvijver	Afgelast in 2018 vanwege blauwalg
Triathlon Zutphen	Zutphen		16-9-2018	JA ('18)	NEE			Vispoortgracht	
Unltd Swim Overschie	Overschie		24-6-2018	JA ('18)	JA		12	de Schie	
Westkapelle- Zoutelande	Westkapelle		8-8-2018	JA ('18)	JA			Noordzee	
Woerden triathlon	Woerden		21-5-2018	NEE	NEE		1	de Singel	
Zeemijl van Bloemendaal	Bloemendaal		12-8-2018	JA ('18)	NEE			Noordzee	
Zeezwemtocht Dishoek-Zoutelande	Dishoek		15-8-2018	JA ('18)	JA			Noordzee	
Zwem 2 mijl	Haren		2-9-2018	JA ('18)	JA		10	Paterswoldsemeer en Hoornsemeer (Haren- Groningen)	

City Swim / Wedstrijd naam	Plaats	Datum		Benaderd	Deelname organisatie	Aanmeldingen		Locatie	Opmerking
		2017*	2018			2017	2018		
Zwemmeland	Monnickendam		2-9-2018	JA ('18)	JA		9	Gouwzee	
Zwemtocht	Stavenisse		11-8-2018	JA ('18)	NEE			Oosterschelde	
Stavenisse-Stalland									
Zwemtocht	Vlissingen		1-8-2018	JA ('18)	JA		1	Noordzee	
Vlissingen- Zoutelande									
Zwemtoernooi pink summer sports	Nijmegen		8-7-2018	NEE	NEE		1	De Spiegelwaal	
<i>Totaal</i>							<i>119</i>	<i>219</i>	

7.2 Monsternameinstructies t.b.v. ontlastingsmonsters

Instructieblad ontlastingmonster Benodigdheden

- 4 verpakkingen met wattenstokje + buisje met bewaarmedium
- 4 etiketten
- 2 'faecesvangers' (in 1 verpakking)
- 2 'safetybags'
- 2 paar plastic handschoenen
- 2 verzendetui's

Tijdstip afname

Neem het monster bij voorkeur op een maandag, dinsdag of woensdag af.

Stappenplan afname ontlastingmonster

Lees de instructies 1x in zijn geheel door alvorens met het bemonsteren te beginnen.

1. Vul de datum in op beide etiketten gelabeld 'voor' dan wel op beide etiketten gelabeld 'na', afhankelijk of het de monstername vóór of na het evenement betreft.
2. Hang de faecesvanger om de toiletbril waarop u uw ontlasting gaat opvangen (foto 1, en zie instructies op de verpakking)
3. Trek voor de monstername, indien u dat wenst, de plastic handschoenen aan.

Haal het buisje met bewaarmedium (foto 2) uit 1 van de verpakkingen, draai het (kleurloze) dopje er van af en leg het open buisje klaar.

4. Pak vervolgens het wattenstaafje uit dezelfde verpakking, houdt deze vast aan de rode dop en steek deze tot $\pm 0,5-1$ cm diep in de ontlasting (zodat alleen het watje in de ontlasting zit), en maak een draaiende beweging.
5. Steek de wattenstok in het buisje en druk goed dicht.
6. Herhaal punten 4 t/m 6 voor een 2e verpakking met wattenstaafje en buisje.
7. Plak de ingevulde etiketten op de 2 buisjes met ontlastingmonster

Stappenplan inpakken ontlastingmonster

8. Plaats de buisjes in de safetybag (foto 3) en sluit deze door de witte sluitstrip te verwijderen. Let erop dat u geen lucht insluit in de safetybag.
9. Plaats de gevulde safetybag in een blauwe plastic verzendetui (foto 4).
10. Stop, bij de eerste monstername (d.w.z. vóór het evenement), ook het ingevulde toestemmingsformulier in de blauwe plastic etui.
11. Verstuur het pakket dezelfde dag. Bewaar het pakket zolang in de koelkast.
12. Doe het pakket in een gewone brievenbus er is geen postzegel nodig.

Wij danken u vriendelijk voor uw medewerking!



Foto 1



Foto 2



Foto 3



Foto 4

7.3 Vragenlijst

Deze vragenlijst bestaat uit 25 tot 44 vragen, onderverdeeld in 6 categorieën. Afhankelijk van uw antwoorden, zullen sommige meer of minder vragen bevatten.
Het invullen kost ongeveer 10 minuten.
De vragenlijst is anoniem en de gegevens worden vertrouwelijk behandeld.

Dit zijn de categorieën:

- A. Algemene vragen (6)
- B. Opleiding en beroep (6 - 9)
- C. Gezondheid en antibioticagebruik (3 - 4)
- D. Huis- en hobbydieren (1 - 2)
- E. Buitenlandse reizen (1 -3)
- F. Zwemmen (8 - 19)

Bij voorbaat hartelijk dank voor uw medewerking!!

Heeft u vragen of opmerkingen dan kunt u contact opnemen d.m.v. onderstaande contactgegevens:

Telefoonnummer: 06-46622540 (Hetty Blaak of Merel Kemper)

Email-adres: zwemmers@rivm.nl

A. Algemene vragen

Vul hier uw persoonlijke studienummer in:

Let op: het is belangrijk dat u de code goed invult. U kunt de code vinden op de brief die u bij het pakket heeft gekregen. De code bestaat uit 6 cijfers en begint altijd met 18-

A.1 Aan welk zwemevenement heeft u deelgenomen? *(Vul hier het zwemevenement in waarbij de ontlastingsmonsters genomen zijn)*

Naam zwemevenement:

Datum zwemevenement:

A.2 Op welke dag heeft u deze vragenlijst ingevuld?

A.3 Wat is uw geslacht?

A.4 Wat is uw geboortejaar?

A.5 Wat is uw geboorteland?

Nederland

Ander land, namelijk

A.6 Wat zijn de eerste twee cijfers van uw postcode?

B. Opleiding en beroep

B.1 Wat is de hoogste opleiding die u heeft afgemaakt?

Geen opleiding afgemaakt

Lager onderwijs (basisschool)

- Lager / Voorbereidend beroepsonderwijs (zoals LTS, LEAO, LHNO, VMBO)
- Middelbaar voortgezet onderwijs (zoals MAVO, MULO, MBO-kort, VMBO-t)
- Middelbaar beroepsonderwijs (zoals MBO-lang, MTS, MEAO, BOL, BBS, INAS)
- Middelbaar hoger onderwijs (zoals HAVO, VWO, Atheneum, Gymnasium, HBS, MMS)
- Hoger beroepsonderwijs (zoals HTS, HBS, HEAO)
- Universiteit

B.2 Wat zijn uw voornaamste werkzaamheden? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Ik werk in dienstverband of als zelfstandige, mijn beroep is:
- Ik verzorg het eigen huishouden
- Ik ben werkeloos/studeer
- Ik ben arbeidsongeschikt
- Ik ben met pensioen
- Ik doe vrijwilligerswerk, namelijk:

B.3 Komt u beroepsmatig in aanraking met dieren, dierproducten (vlees en/of slachtafval) of dierlijke mest? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Ja, met dieren
- Ja, met dierproducten
- Ja, met dierlijke mest
- Nee

B.3a Met welke dieren komt u in uw (vrijwilligers)werk in aanraking? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Huisdieren
- Kinderboerderijdieren
- Paarden (via manege of fokkerij)
- Landbouwhuisdieren, namelijk:

B.3b Met welke dierlijke producten komt u in uw (vrijwilligers)werk in aanraking? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Rauw vlees (bijv. slachterij, verkoop, of dierverzorging)
- Slachtafval
- Anders, namelijk:

B.3c Met welke typen mest komt u in uw (vrijwilligers)werk in aanraking? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Pluimvee
- Varkens
- Melkrundvee
- Vleeskalveren
- Anders, namelijk:

B.4 Komt u beroepsmatig in aanraking met rioolwater?

- Ja
- Nee

B.5 Komt u beroepsmatig in aanraking met patiënten en/of bewoners van een verzorgingshuis

- Nee
- Ja, met ziekenhuis patiënten
- Ja, met bewoners van een verzorgingshuis
- Anders, namelijk:

B.6 Woont u op een bedrijf waar beroepsmatig dieren worden gehouden?

- Nee
- Ja

C. Ziekte en medicijngebruik

C.1 Bent u de afgelopen 12 maanden in een Nederlands ziekenhuis opgenomen geweest?

- Nee
- Ja, vanwege

C.2 Bent u de afgelopen 12 maanden in een buitenlands ziekenhuis opgenomen geweest?

- Nee
- Ja, vanwege
In welk land?

C.3 Heeft u de afgelopen 12 maanden antibiotica gebruikt?

- Nee
- Ja

Aantal antibioticakuren in de afgelopen 12 maanden:

C.4 Hoe lang is het geleden dat u de laatste antibioticumkuur heeft genomen?

- Ik gebruik het nu nog
- < 3 maanden
- 3 – 6 maanden
- 7 – 12 maanden

D. Huis- en hobbydieren

D.1 Zijn er huis- en/of hobbydieren in uw huishouden?

- Nee
- Nee, maar wel geweest in de afgelopen 12 maanden, namelijk tot...weken/maanden
- Ja

D.2 Wat voor dieren zijn dit (geweest)? (*meerdere antwoorden mogelijk*)

- Kat(ten)
- Hond(en)
- Kip(pen)
- Geit(en) en/of schaap(en)
- Paard(en)
- Overig, namelijk:

E. Buitenlandse reizen

E.1 Bent u in de afgelopen 6 maanden naar het buitenland geweest?

- Nee
- Ja

E.2 Bent u in de afgelopen 6 maanden in een land buiten de Europese Unie geweest?

- Nee
- Ja

E.3 Naar welke landen bent u geweest? Hoe lang verbleef u daar?

- | | |
|---------|-------------|
| 1. | dagen |
| 2. | dagen |
| 3. | dagen |
| 4. | dagen |
| 5. | dagen |

F. Zwemmen

Vraag F.1 t/m F.4 gaan over het evenement waarbij ontlastingsmonsters genomen zijn.

F.1 Welke afstand heeft u gezwommen tijdens het huidige zwemevenement? meter

F.2 Hoe lang heeft u ongeveer gezwommen tijdens het huidige zwemevenement?....minuten

F.3 Welke zwemslag heeft u toegepast tijdens het huidige zwemevenement? *(meerdere antwoorden mogelijk)*

- Schoolslag
- Borstcrawl
- Rugslag
- Rugcrawl
- Overig, namelijk:

F.4 Heeft u tijdens het zwemevenement water binnengekregen via mond of neus?

- Nee
- Dat weet ik niet
- Ja

F.4a Hoeveel water denkt u dat u tijdens het zwemevenement heeft binnengekregen?

- 1 slok
- 2 slokken
- 3 slokken
- 4-5 slokken
- 6-9 slokken
- 10 of meer slokken

F.5 Doet u vaker mee met zwemevenementen? *(meerdere antwoorden mogelijk)*

- Nee, dit was de eerste keer
- Ja, ik heb dit jaar al eerder meegedaan
- Ja, ik heb in 2014 tot 2017 al eerder mee gedaan
- Ja, ik doe elk jaar mee aan 1 zwemevenement
- Ja, ik doe elk jaar mee aan meer dan 1 zwemevenement

F.6 Heeft u in de 12 maanden voorafgaand aan het huidige zwemevenement in Nederlands oppervlaktewater gezwommen?

- Nee, dit zwemevenement is de eerste keer
- Ja, 1-4 keer
- Ja, 5-15 keer
- Ja, vaker dan 15 keer

F.6a Als u in Nederlands oppervlaktewater zwemt, hoe lang zwemt u dan gemiddeld per keer?

Ongeveer...minuten

F.6b Als u in Nederlands oppervlaktewater zwemt, in wat voor water zwemt u dan? *(meerdere antwoorden mogelijk)*

- In een meer of plas (officieel recreatiewater)
- In een meer of plas (geen officieel recreatiewater)
- In een meer of plas (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)
- In een rivier of kanaal (officieel recreatiewater)
- In een rivier of kanaal (geen officieel recreatiewater)
- In een rivier of kanaal (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)
- In de zee

Een officieel recreatiewater herkent u aan een blauw bord met informatie over de voorzieningen ter plekke en met informatie over de waterkwaliteit, of aan het feit dat er voor het recreëren betaald wordt

F.6c Indien u vaker dan 15 keer in Nederlands open water zwemt, met welke frequentie zwemt u?

- 1 tot 3 keer per week
- Vaker dan 3 keer per week
- Anders, namelijk:

F.7 Heeft u voor het zwemevenement getraind door minstens 1000 meter aan een stuk te zwemmen in oppervlaktewater?

- Nee
- Ja, 1x
- Ja, 2-3x
- Ja, vaker dan 3x

F.7a In wat voor water was dat? *(meerdere antwoorden mogelijk)*

- In een meer of plas (officieel recreatiewater)
- In een meer of plas (geen officieel recreatiewater)
- In een meer of plas (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)
- In een rivier of kanaal (officieel recreatiewater)
- In een rivier of kanaal (geen officieel recreatiewater)

In een rivier of kanaal (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)

In de zee

Een officieel recreatiewater herkent u aan een blauw bord met informatie over de voorzieningen ter plekke en met informatie over de waterkwaliteit, of aan het feit dat er voor het recreëren betaald wordt

F.8 Wanneer was, voorafgaand aan het zwemevenement de laatste keer dat u in Nederlands oppervlaktewater zwom?

Minder dan een week voor het evenement

1-2 weken voor het evenement

2 weken tot een maand voor het evenement

Langer dan een maand voor het evenement

F.8a In wat voor water was dat? (meerdere antwoorden mogelijk)

In een meer of plas (officieel recreatiewater)

In een meer of plas (geen officieel recreatiewater)

In een meer of plas (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)

In een rivier of kanaal (officieel recreatiewater)

In een rivier of kanaal (geen officieel recreatiewater)

In een rivier of kanaal (ik weet niet of het een officieel of niet-officieel recreatiewater betreft)

In de zee

F.9 Heeft u in de laatste 6 maanden voorafgaand voor het zwemevenement in het buitenland in oppervlaktewater gezwommen?

Nee

Ja, in (geef aan welk land):

F.9a Wanneer was, voorafgaand aan het zwemevenement, de laatste keer dat u in buitenlands oppervlaktewater heeft gezwommen?

Minder dan een week voor het evenement

1-2 weken voor het evenement

2 weken tot een maand voor het evenement

Langer dan een maand voor het evenement

F.10 Beoefent u ook andere watersporten?

Nee

Ja, kanoën

Ja, windsurfen

Ja, kitesurfen

Ja, duiken

Ja, anders, namelijk:

F.10a Heeft u deze watersport(en) beoefend in de 12 maanden voorafgaand aan het zwemevenement?

Nee

Ja, 1- 4 keer

Ja, 5-15 keer

Ja, vaker dan 15 keer

F.10b Wanneer was, voorafgaand aan het zwemevenement, de laatste keer dat u (een van) deze watersport(en) beoefend heeft?

- Minder dan een week voor het evenement
- 1-2 weken voor het evenement
- 2 weken tot een maand voor het evenement
- Langer dan een maand voor het evenement

Dit waren de vragen. Heeft u nog opmerkingen over de vragenlijst?

7.4 Gebruikte primers voor moleculaire analyses

PCR primers gebruikt voor aantonen aanwezigheid van genen

Primer	Sequentie	Grootte PCR product (bp)	Hybridisatie positie ^a
CTX-M-1g_61F	5'- TTA GGA ART GTG CCG CTG YA-3'	688	61 – 80
CTX-M-1g_748R	5'- CGA TAT CGT TGG TGG TRC CAT-3'		748 – 728
CTX-M-9g_299F	5'-TCA AGC CTG CCG ATC TGG T-3'	561	299 – 317
CTX-M-9g_859R	5'-TGATTCTCGCCGCTGAAG-3'		859 – 842
TEM_13F	5'-CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC-3'	800	13 – 34
TEM_812R	5'-CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC-3'		812 – 791
SHV_71F	5'-AGCCGCTTGAGCAAATTAAC-3'	713	71 – 91
SHV_783R	5'-ATCCCGCAGATAAATCACCAC-3'		783 – 763
OXA_201F	5'-GGCACCAGATTCAACTTTCAAG-3'	564	201 – 222
OXA_764R	5'-GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG-3'		764 – 743

Primers en PCR condities zijn afkomstig uit de publicatie van Dallenne et al. (Dallenne et al. 2010). ^aVanaf base 'A' van start het codon (ATG). bp=baseparen.

Primers gebruikt voor sequencen^a

Primer	Sequentie	Hybridisatie positie ^b	Grootte PCR product		Positie (az)	Ref. ^c
			bp	az		
CTX-M-1g_-3F ^f	5'- CCC ATG GTT AAA AAA TCA CTG C-3'	-3 – 19 ^f				1
CTX-M-1g_+65R	5'-CAG CGC TTT TGC CGT CTA AG'-3'	+65 - +47 ^e	825	273	19 – 291	1
CTX-M-9g_2F	5'-TGG TGA CAA AGA GAG TGC AAC G-3'	2 – 23				2
CTX-M-9g_876R	5'-TCA CAG CCC TTC GGC GAT-3'	876 – 859	835	278	9 - 286	2
TEM_13F	5'-CAT TTC CGT GTC GCC CTT ATT C-3'	13 – 34				3
TEM_859R	5'- ACC AAT GCT TAA TCA GTG AG-3'	859 – 840	786	262	15 – 276	4
SHV_23F	5'- TTA TCT CCC TGT TAG CCA CC-3'	23 – 42				4
SHV_819R	5'- GAT TTG CTG ATT TCG CTC GG-3'	819 – 800	757	252	15 – 266	4

^aIndien afwijkend van de primers gebruikt voor aantonen aanwezigheid. ^bVanaf base 'A' van start het codon (ATG). ^cReferenties: 1=(Carattoli et al. 2008), 2=(Paauw et al. 2006), 3=(Dallenne et al. 2010), 4=(Olesen et al. 2004),. bp=baseparen, az=aminozuren.

7.5 Karakteristieken onderzoekspopulatie

Tabel 1. Algemene karakteristieken van evenementzwemmers.

Groep	Aantal	% van totaal
Aantal deelnemers^a	278	
Geslacht		
Man	108	39
vrouw	170	61
Leeftijd		
<20	3	1,1
20-40	62	22
40-65	203	73
65-80	10	3,6
Geboorteland		
Nederland	272	98
Ander land	6	2,2
Vaker in Nederlands open water gezwommen de afgelopen 12 maanden		
Nee	34	12
Ja	244	88
In het buitenland in open water gezwommen in de afgelopen 6 maanden		
Nee	144	52
Ja	134	48

^aTotaal aantal deelnemers met een voor- en/of na-monsters en een ingevulde vragenlijst.

Tabel 2. Zwemgedrag van zwemmers die vaker in Nederlands open water zwemmen.

Groep	Aantal	% van totaal
Aantal deelnemers^a	244	
Hoe vaak in Nederlands open water gezwommen in 12 maanden voor evenement		
1-4 keer	92	38
5-15 keer	91	37
Meer dan 15 keer	61	25
Gemiddelde zwemduur in open water		
<30 min	30	12
30-60 min	125	51
≥60 min	89	36
Meer dan 1km achter elkaar gezwommen		
Nee	26	11
Ja, 1x	22	9
Ja, 2-3x	60	25
Ja, meer dan 3x	136	56
De laatste keer voorafgaand aan het evenement		
Minder dan een week	115	47
1-2 weken	69	28
2 weken tot een maand	36	15
Langer dan een maand	23	9
Type oppervlaktewater in Nederland		
Meer/plas	66	27
Meer/plas & rivier/kanaal	76	31
Meer/plas & rivier/kanaal & zee	35	14
Meer/plas & zee	15	6
Rivier/kanaal	37	15
Rivier/kanaal & zee	10	4
Zee	5	2

Groep	Aantal	% van totaal
Aantal deelnemers^a	244	
Aantal zoetwater zwemmers^b	239	
Officieel versus niet-officieel zwemwater in Nederland		
Alleen officieel	67	28
Alleen niet-officieel	55	23
Ik weet niet	23	10
Combinaties ^c	94	39

^aAantal deelnemers die vaker dan alleen tijdens het evenement in open water gezwommen hebben, met ingevulde vragenlijst en voor- en/of na-monsters. ^bAantal deelnemers die vaker gezwommen hebben in zoet water (d.w.z. exclusief de mensen die alleen in de zee hebben gezwommen); ^cvoorkomende combinaties: officieel en niet-officieel (n=52), officieel, niet-officieel en ik weet niet (n=13), officieel en ik weet niet (n=22), niet-officieel en ik weet niet (n=7).

Tabel 3. Zwemgedrag tijdens zwemevenementen.

Groep	Aantal	% van totaal
Totaal deelnemers^a	256	
Gezwommen afstand		
<1000m	9	4
1000-2000m	65	25
2000-5000m	157	61
≥5000m	25	10
Tijd gezwommen		
<30 min	20	8
30-60 min	128	50
60-120 min	94	35
≥120 min	13	5
Gebruikte zwems slag		
Alleen schoolslag	66	26
Alleen borstcrawl	127	50
Combinaties ^b	63	25
Water binnengekregen		
Ja	196	77
Nee	22	9
Weet ik niet	31	14
Aantal met water binnengekregen		
Hoeveel water binnengekregen		
<4 slokken	114	58
4-10 slokken	65	33
>10 slokken	17	9

^aAantal deelnemers die daadwerkelijk meegedaan hebben met een evenement, en na-monster hebben ingestuurd en de vragenlijst ingevuld. ^bSchoolslag en borstcrawl (n=48), School- en rugslag (n=6), borstcrawl en rugslag (n=1), Schoolslag, borstcrawl, rugslag (n=4), Schoolslag, borstcrawl, rugcrawl (n=3), schoolslag, borstcrawl, rugslag, rugcrawl (n=1),

7.6 Univariante analyses

Tabel 1. Zwemgedrag tijdens zwemevenement in relatie tot dragerschap na het evenement.

	Totaal	ESBL-EC positief (%)	OR ^b	P-waarde
Aantal deelnemers^a	227			
Gezwommen afstand				
<1500m	34	2 (5,9%)	Ref	-
1500-2000m	33	2 (6,1%)	0,8	0,765
2000-3000m	98	4 (4,1%)	0,9	0,909
≥3000m	62	2 (3,2%)	0,9	0,889
Tijd gezwommen				
<38 minuten	48	1 (2,1%)	Ref	-
38-55 minuten	66	3 (4,5%)	3,4	0,307
55-68 minuten	57	4 (7,0%)	3,8	0,248
≥68 minuten	58	2 (3,4%)	2,0	0,549
Gebruikte zwemslag				
Alleen borstcrawl	116	2 (1,7%)	Ref	-
Alleen schoolslag	55	5 (9,1%)	6,0	0,023
Combinaties ^c	56	3 (5,4%)	4,5	0,093
Water binnen gekregen				
Nee	21	0 (0%)	Ref	-
Ja	176	10 (5,7%)	- ^d	-
Weet ik niet	30	0 (0%)	-	-

^aAantal deelnemers die daadwerkelijk meegedaan hebben met een evenement, en voor- en een na-monster hebben ingestuurd, van te voren ESBL-EC negatief waren, en de vragenlijst hebben ingevuld. De gezwommen afstand en de tijd gezwommen zijn ingedeeld op basis van percentielen. ^bOR=odds ratio, waarbij is gecorrigeerd voor clustering op het niveau van het individu, jaar, en evenement; n.a.=niet geanalyseerd. ^cSchoolslag en borstcrawl (n=44), School- en rugslag (n=6), Schoolslag, borstcrawl, rugslag (n=4), Schoolslag, borstcrawl, rugcrawl (n=2); ^dlogistische regressie analyse niet mogelijk vanwege nul in de referentiegroep.

Tabel 2. Zwemgedrag in het algemeen in relatie tot ESBL-EC dragerschap voor en/of na het evenement.

	Totaal	ESBL-EC positief (%)	OR ^a	P-waarde
Gezwommen in open water (n=278)				
Nee	34	3 (8,8%)	Ref	-
Ja, 1-4 keer	92	15 (16%)	2,0	0,334
Ja, 5-15 keer	91	11 (12%)	1,5	0,513
Ja, meer dan 15 keer	61	5 (8,2%)	1,0	0,978
Gemiddelde duur per keer (n=244)				
<30 minuten	30	6 (20%)	Ref	-
30-59 minuten	125	11 (8,8%)	0,41	0,077
≥60 minuten	89	14 (16%)	0,77	0,605
Getraind vóór evenement (n=244)				

	Totaal	ESBL-EC positief (%)	OR^a	P-waarde
Nee	26	4 (15%)	Ref	-
Ja	218	27 (12%)	0,77	0,133
Gebruikte zwemslag tijdens evenement (n=263)				
Alleen borstcrawl	129	9 (7%)	Ref	-
Alleen schoolslag	68	13 (19%)	3,1	0,043
In het buitenland gezwommen (n=278)				
Nee	144	16 (11%)	Ref	-
Ja	134	18 (13%)	1,3	0,527
Type water (n=244)				
Niet meer/plas	52	7 (13%)	Ref	-
Meer/plas	192	24 (13%)	0,9	0,861
Niet rivier/kanaal	86	10 (12%)	Ref	-
Rivier kanaal	158	21 (13%)	1,2	0,689
Niet zee	179	28 (16%)	Ref	-
Zee	65	3 (5%)	0,38	0,099
Alleen officieel	67	10 (15%)	Ref	-
Alleen niet-officieel	55	7 (13%)	0,91	0,913
Alle combinaties ^b	122	14 (11%)	0,76	0,669
Andere watersporten (n=278)				
Nee	221	28 (13%)	Ref	-
Ja	57	6 (10%)	0,85	0,822

^aOR=odds ratio, waarbij is gecorrigeerd voor clustering op het niveau van het individu, jaar, en evenement; n.a.=niet geanalyseerd. ^bvoorkomende combinaties: officieel en niet-officieel (n=52), officieel, niet-officieel en ik weet niet (n=13), officieel en ik weet niet (n=22), niet-officieel en ik weet niet (n=7).

Tabel 3. Andere risicofactoren in relatie tot ESBL-EC dragerschap voor en/of na het evenement.

	Totaal	ESBL-EC positief (%)	OR ^a	P-waarde
Beroepsmatig contact met patiënten (n=278)				
Nee	233	24 (10%)	Ref	-
Ja	45	10 (22%)	2,4	0,041
Ziekenhuisopname afgelopen 12 maanden (n=278)				
Nee	265	30 (11%)	Ref	-
Ja	13	4 (30%)	3,4	0,086
Naar het buitenland in afgelopen 12 maanden (n=278)				
Nee	48	7 (15%)	Ref	-
Ja	230	27 (12%)	0,8	0,648
Reizen buiten de EU afgelopen 12 maanden (n=278)				
Nee	219	21 (10%)	Ref	-
Ja	59	13 (22%)	2,7	0,030
Antibioticagebruik afgelopen 12 maanden (n=278)				
Nee	242	31 (8,3%)	Ref	-
Ja	36	3 (13%)	0,63	0,408
Beroepsmatig contact met dieren en dierproducten (n=278)				
Nee	268	33 (12%)	Ref	-
Ja	10	1 (10%)	0,82	0,859
Wonen op een landbouwhuisdierbedrijf (n=278)				
Nee	276	34 (12%)	Ref ^b	-
Ja	2	0 (0%)	-	-
Contact met rioolwater (n=278)				
Nee	276	34 (12%)	Ref ^b	-
Ja	2	0 (0%)	-	-

^aOR=odds ratio, waarbij is gecorrigeerd voor clustering op het niveau van het individu, jaar, en evenement; n.a.=niet geanalyseerd. ^blogistische regressie analyse niet mogelijk vanwege nul in de referentiegroep.

RIVM

De zorg voor morgen begint vandaag