



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

## **Potentieel ziekteverwekkende micro-organismen in lucht afkomstig uit mestverwerkingsinstallaties**

RIVM-briefrapport 2021-0140  
S.K. Dollmann et al.





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

## **Potentieel ziekteverwekkende micro-organismen in lucht afkomstig uit mestverwerkingsinstallaties**

RIVM-briefrapport 2021-0140  
S.K. Dollmann et al.

## Colofon

© RIVM 2021

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.

Het RIVM hecht veel waarde aan toegankelijkheid van haar producten. Op dit moment is het echter nog niet mogelijk om dit document volledig toegankelijk aan te bieden. Als een onderdeel niet toegankelijk is, wordt dit vermeld. Zie ook [www.rivm.nl/toegankelijkheid](http://www.rivm.nl/toegankelijkheid)

DOI 10.21945/RIVM-2021-0140

S.K. Dollmann (auteur), RIVM  
L.C. Vermeulen (auteur), RIVM  
H. Schmitt (auteur), RIVM  
A. van der Wal (auteur), RIVM  
A.M. de Roda Husman (auteur), RIVM

Contact:  
Sophia Dollmann  
Centrum voor Infectieziektebestrijding / Milieu  
[sophia.dollmann.02@rivm.nl](mailto:sophia.dollmann.02@rivm.nl)

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van de Provincie Noord-Brabant in het kader van een verkenning voor een monitoringsprogramma.

Dit is een uitgave van:  
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**  
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
Nederland  
[www.rivm.nl](http://www.rivm.nl)

## Publiekssamenvatting

### **Potentieel ziekteverwekkende micro-organismen in lucht afkomstig uit mestverwerkingsinstallaties**

Mestbewerkingsinstallaties bewerken het overschot aan mest. In dierlijke mest kunnen bacteriën of virussen zitten. Het is niet bekend in hoe ver de installaties deeltjes uitstoten die schadelijk zijn voor de gezondheid. Omwonenden maken zich daar zorgen om. Het RIVM werkt daarom aan een monitoringsprogramma om ziekteverwekkende organismen te kunnen meten in de buitenlucht rondom deze installaties. De eerste stap is daar nu in gemaakt. Het RIVM doet dit in opdracht van de provincie Noord-Brabant.

Het is veel werk om alle mogelijke ziekteverwekkers te meten in lucht rondom mestverwerkingsinstallaties. Bepaalde groepen ziekteverwekkers gedragen zich hetzelfde in mest en in lucht. Het RIVM heeft daarom uitgezocht welke organismen verschillende groepen ziekteverwekkende bacteriën en virussen kunnen vertegenwoordigen. Als deze 'indicatoren' in de lucht zitten, kan gericht in kaart worden gebracht welke ziekteverwekkers uit de installaties komen. De voorgestelde indicatoren zijn de bacteriën *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. coli*, enterokokken en endotoxine. Somatische colifagen zijn een indicator voor virussen. Het RIVM adviseert ook met welke methoden het beste de uitstoot van de gekozen indicatoren kunnen worden gemeten.

Het RIVM adviseert om luchtmetingen op meerdere afstanden van de installaties te doen. Veel ziekteverwekkers sterven namelijk snel af in de buitenlucht. Als er ziekteverwekkers in de lucht zitten, zullen die aantallen op grotere afstand van een installatie kleiner zijn.

Kernwoorden: mestbewerkingsinstallaties, mest, indicatoren, ziekteverwekkers



## Synopsis

### **Potentially pathogenic micro-organisms originating from manure-processing plants in the air**

Manure-processing plants process surplus manure. Animal manure can contain bacteria and/or viruses. Although it is not known whether these plants release infectious agents that are harmful to people's health, local residents are concerned about this issue. RIVM is therefore working on a monitoring program for measuring pathogenic organisms originating from processed manure in the air outside these plants and this report provides the first step to this end. RIVM was commissioned by the Province of North-Brabant to carry out this research.

Measuring all the pathogens that may be present in air around manure treatment plants is a laborious task. However, certain groups of infectious agents behave similarly in manure and air. For this reason, RIVM has investigated which organisms could be good representatives of the various groups of pathogenic bacteria and viruses. If these 'indicators' are present in the air, the pathogens that originate from the plants can be identified more efficiently. The identified indicators are endotoxin and the bacteria *Campylobacter*, *Clostridium*, *E. coli* and *Enterococci*. Somatic coliphages are an indicator for the presence of viruses. RIVM also advises on which methods can best be used to measure the release of the indicators chosen.

RIVM recommends that air measurements be taken at varying distances from the plants in question because many pathogens die rapidly in the outside air. If there are pathogens in the air, the numbers at greater distances from a plant would be expected to be lower.

Keywords: manure-processing plants, manure, indicators, pathogens





## Inhoudsopgave

### **Samenvatting — 9**

#### **1 Inleiding — 11**

- 1.1 Achtergrond en aanleiding — 11
- 1.2 Doelstelling van het onderzoek — 11
- 1.3 Afbakening — 12

#### **2 Biologische agentia in mest — 13**

- 2.1 Pathogenen en micro-organismen in mest — 13
- 2.2 Resistente bacteriën — 16
- 2.3 Indicatoren — 16
  - 2.3.1 Algemene eigenschappen van indicatoren — 16
  - 2.3.2 Gewenste eigenschappen van geschikte indicatoren uit MBIs — 16
  - 2.3.3 Mogelijke indicatoren — 17
- 2.4 Hoe pathogenen en indicatoren uit mest in de lucht kunnen komen — 17

#### **3 Mestbewerkingsinstallaties — 19**

- 3.1 Wat zijn de meest voorkomende? — 19
- 3.2 Mestbewerking en overlevingskansen van pathogenen in mest — 20
- 3.3 Overleving van biologische agentia in lucht — 24
- 3.4 Wat zijn goede indicatoren om te meten — 25

#### **4 Emissie metingen — 35**

- 4.1 Wanneer meten — 37
- 4.2 Waar meten — 37
- 4.3 Hoe kun je meten — 38
- 4.4 Luchtmonsters analyseren — 39

#### **5 Conclusie en aanbevelingen — 41**

#### **6 Verklarende woordenlijst — 43**

#### **7 Annex — 45**

#### **8 Referenties — 49**



## Samenvatting

Nederland, en met name de Provincie Noord-Brabant, heeft een mestoverschot, waardoor mest bewerkt moet worden. Mestbewerking vindt op bedrijfsniveau of in centrale mestbewerkingsinstallaties (MBIs) plaats. Omwonenden maken zich zorgen om hun gezondheid omdat weinig bekend is over mogelijke uitstoot (emissies) van ziekteverwekkende micro-organismen. Het doel van dit rapport is om een basis voor een monitoringsprogramma te leveren met betrekking tot de uitstoot van micro-organismen uit MBIs. Niet alle mogelijke ziekteverwekkende micro-organismen kunnen gemeten worden. De focus van deze literatuurstudie is daarom het identificeren van indicatororganismen. Dit zijn organismen waarvan de aanwezigheid iets zegt over de mogelijke aanwezigheid van ziekteverwekkers in de lucht rondom MBI's. Op deze manier kan effectief in beeld gebracht worden of er een risico is op uitstoot van potentieel ziekteverwekkende micro-organismen uit MBIs.

In mest zit een veelheid aan micro-organismen die door mestbewerking gereduceerd kan worden. Hygiënisatie en omgekeerde osmose van vloeibare bestanddelen van de mest blijken hiervoor effectieve technieken te zijn. Maar zelfs na hittebehandeling kunnen sommige robuuste biologische agentia overleven. Dit rapport geeft inzicht in de veranderende hoeveelheid biologische agentia, waaronder (ziekteverwekkende) micro-organismen, in mest nadat verschillende mestbewerkingstechnieken toegepast zijn. Omdat tijdens mestbewerking ook mechanische processen plaatsvinden, zoals scheiden of draaien en roteren van mest, zouden hierbij bioaerosolen kunnen ontstaan. In principe kunnen alle micro-organismen in de vorm van bioaerosolen in de lucht terecht komen. Of zij ook in de buitenlucht uitgestoten worden, moet gemeten worden. Veel MBIs maken gebruik van luchtwassers om de lucht te reinigen. Luchtwassers reduceren vooral geur, fijnstof en ammoniak. Over de effecten op emissies van ziekteverwekkers naar de buitenlucht is echter weinig bekend. Een ziekteverwekkend micro-organisme kan uitgestoten worden als het ook de luchtwasser overleeft. We adviseren daarom om ook buitenluchtmetingen te doen na eventuele luchtwassing.

Geschikte indicatoren voor de uitstoot van potentieel ziekteverwekkende micro-organismen uit MBIs zijn volgens deze studie *Campylobacter*, *Clostridium spp.*, *E. coli*, enterokokken, endotoxinen, en somatische colifagen. Deze indicatoren representeren Gram-positieve of Gram-negatieve bacteriën, of virussen. Deze leveren de meeste informatie op met betrekking tot ziekteverwekkers afkomstig uit verschillende MBIs naar de lucht. Omdat de concentraties van bioaerosolen met toenemende afstand van de bron snel afnemen, wordt geadviseerd om op verschillende afstanden van de MBI te meten. Ook worden adviezen over meetmethoden gegeven, waarmee emissies van gekozen indicatoren het beste in kaart kunnen worden gebracht.

Kernwoorden: mestbewerking, potentiële ziekteverwekkers, emissies, indicatoren, luchtmetingen



# 1 Inleiding

## 1.1 Achtergrond en aanleiding

Nederland heeft een mestoverschot. Vooral de veehouderij in Noord-Brabant produceert meer mest dan op het land mag worden gebracht. Van de totale jaarlijkse mestproductie in Nederland (74 miljard kg in 2019) bedroeg de mestproductie in Noord-Brabant bijna 14 miljard kg (CBS 2020). In 2016 moest in Nederland 5,46 miljard kg mest bewerkt of buiten Nederland afgezet worden (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Dit mestoverschot (2,5 keer meer stikstof en fosfaat dan wat legaal uitgereden mag worden) moet worden bewerkt (CBS 2020). Noord-Brabant wil haar mestoverschot zelf binnen de provincie bewerken. Mestbewerking gebeurt op bedrijfsniveau of in centrale mestbewerkingsinstallaties (MBIs), waar de mest eerst naartoe getransporteerd moet worden. Hierbij ondervinden omwonenden regelmatig geur- en geluidshinder. Dit leidt tot zorgen en de roep om inzichten in de mogelijke volksgezondheidsrisico's (Van den Hout and Vermeulen 2019). Er zijn nog geen uitbraken van infectieziekten rond MBIs gerapporteerd (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Desondanks is het van belang de zorgen van de omwonenden serieus te nemen. Daarvoor moeten de emissies en mogelijke risico's in kaart gebracht worden. Er bestaat nog geen monitoringsprogramma en er zijn nog weinig luchtmetingen van ziekteverwekkers rond MBIs gedaan.

## 1.2 Doelstelling van het onderzoek

In Noord-Brabant is de Beleidsregel "Volksgezondheid en Mestbewerkingsinstallaties" van kracht (Provincie Noord-Brabant 2018). Daarbij is het uitgangspunt de uitstoot van totaal stof naar de omgeving zo laag mogelijk te houden. De provincie wil de emissie van totaal stof minimaliseren, potdicht of zo dicht mogelijk daarbij in de buurt. Onderdeel van het beleid is ook de monitoring van de emissies van ziekteverwekkende micro-organismen. Het doel van dit literatuuronderzoek is de identificatie van een geschikte indicator voor emissies van ziekteverwekkende micro-organismen uit MBIs via de lucht. Het overkoepelende doel van het project is advies over een monitoringsprogramma over de emissies van micro-organismen uit MBIs. Omdat het ondoenlijk lijkt om alle mogelijke ziekteverwekkers te monitoren is de vraag: *Hoe kan uitstoot van potentieel risicovolle organismen bij MBIs zo effectief mogelijk in beeld worden gebracht?* Deze vraag wordt onderverdeeld in de volgende deelvragen:

1. Welke bacteriën en/of stoffen kunnen gebruikt worden om een beeld te krijgen van emissies van pathogenen en resistente bacteriën uit MBIs ?
2. Met welke meetmethoden kunnen emissies van gekozen indicatoren het beste in kaart gebracht worden?

Dit rapport geeft inzichten uit de literatuur over de geschikte indicatororganismen voor emissies van biologische agentia uit MBIs. Het zal als basis dienen voor toekomstige metingen en advies voor een monitoringsprogramma. Deze literatuurstudie brengt in kaart wat de

mogelijkheden en beperkingen zijn van diverse indicatororganismen, meetapparatuur en meetmethoden voor bronemissiebepaling en voor monitoring van lucht rondom MBIs.

### **1.3 Afbakening**

Dit onderzoek richt zich met name op mest van varkens en runderen. In de context van Noord-Brabant zijn dit de belangrijkste mestoverschotten. Bij de geïnventariseerde emissies gaat het vooral om emissies uit MBIs, maar ook samenhangende processen die op het bedrijf plaatsvinden, zoals transport, tanken en vullen van de installaties.

Literatuur over composteerbedrijven die alleen GFT afval bewerken wordt uitgesloten omdat zich hier andere typen micro-organismen in bevinden (niet van fecale afkomst) (Hagens, Rutjes et al. 2011). Omdat er weinig studies over bioaerosolen uit MBIs zijn, worden ook studies van afvalwaterzuiveringsinstallaties meegenomen. Dit kan inzichten in het gedrag van fecale micro-organismen in de lucht geven.

Voor de eenvoud wordt in dit rapport de term "mestbewerking" voor alle technieken gebruikt. Er bestaan echter wel verschillen tussen mestbewerking en mestverwerking (Van Leuken et al. 2017).

Mestverwerking is het hygiëniseren van mest (pasteurisatie) zodat de mest geëxporteerd mag worden. Onder mestbewerking wordt in het algemeen het behandelen van dierlijke mest verstaan, zonder de mest wezenlijk te veranderen. Hieronder vallen verschillende technieken zoals het scheiden van mest, vergisten, composteren of drogen (van Leuken, Hoeksma et al. 2017, Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit 2020).

## 2 Biologische agentia in mest

### 2.1 Pathogenen en micro-organismen in mest

In mest zit een veelheid aan micro-organismen. Micro-organismen zijn overal aanwezig in onze leefomgeving. De meeste micro-organismen zijn voor de mens ongevaarlijk, maar een klein deel van de micro-organismen kan ziekteverwekkend zijn. In *tabel 1* is een overzicht uit een eerder uitgevoerde systematische literatuurreview van ziekteverwekkende micro-organismen in mest gepresenteerd (Dollmann 2018). In deze tabel zijn alleen micro-organismen genoemd waarvan ook de aantallen in een bepaalde hoeveelheid mest bekend zijn. Bacteriën, virussen en parasieten zoals *Salmonella*, hepatitis E virus (HEV) of *Cryptosporidium* zijn voorbeelden van zoönotische pathogenen. Zoönotische pathogenen kunnen van dier op mens (of andersom) worden overdragen en kunnen in mensen ziekte verwekken, ook als het dier geen symptomen heeft (Centers for Disease Control and Prevention 2018, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu 2020).

Tabel 1 Ziekteverwekkers in verse / onbewerkte mest

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie	Gemiddelde concentratie	Eenheid
					[MIN-MAX]		
<i>Campylobacter</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	77/118 (65%)	8.8x10 <sup>2</sup> - 2.4x10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
	Frey et al. (2015)	Varken		2/2 (100.0%)		578	Cellen/g
	Krueger et al. (2008)	Rund		17/18 (94.4%)		1.2 x 10 <sup>3</sup>	Kve/ml
	Leblanc Maridor et al. (2008)	Varken				10 <sup>3</sup> - 10 <sup>7</sup>	Kve/g
	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			10.1 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	81/118 (69%)	6.0 x 10 <sup>2</sup> - 2.4 x 10 <sup>6</sup>	2.2 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
<i>Cryptosporidium</i>	Budu-Amoako et al. (2012)	Rund		108/752 (14.4%)	2.6 x 10 <sup>7</sup> (MAX)		Oöcyten/g
	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	1/118 (0.8%)		4.4 x 10 <sup>3</sup>	Kopieën/g
	Jenkins et al. (2013)	Rund	30 ml		6.8 x 10 <sup>13</sup> (MAX)	2.2 x 10 <sup>13</sup>	Oöcyten/g
	Oates et al. (2012)	Rund		13/201 (6.5%)		1870.7	Oöcyten/g
<i>E. coli</i>	Van Leuken et al. (2017)	Rund			1.5 x 10 <sup>4</sup> (MAX)	1.4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			3.6 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
	Von Salviati et al. (2015)	Varken		11/21 (52.4%)		6.5 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Giardia</i>	Budu-Amoako et al. (2012)	Rund		240/752 (31.9%)	2.6 x 10 <sup>7</sup> (MAX)		Cysten/g
	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	1/118 (0.8%)		1.3 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
	Grit et al. (2012)	Rund			3.7 x 10 <sup>4</sup> (MAX)		Cysten/g
	Hoar et al. (2009)	Rund	100 g	1006/5260 (19.1%)	10 <sup>6</sup> (MAX)		Cysten/g
	Oates et al. (2012)	Rund		69/201 (34.3%)		483.9	Cysten/g
Hepatitis E virus	Givens et al. (2016)	Varken		2/2 (100.0%)	2.8 x 10 <sup>9</sup> - 3.5 x 10 <sup>10</sup>		Kopieën/ml
	Zwettler et al. (2012)	Rund		1/2 (50.0%)		10 <sup>5</sup>	Kopieën/g
<i>Listeria m.</i>	Biswas et al. (2018)	Rund	150 g		6.3 - 199.5		Kve/g
	Desneux et al. (2016)	Varken			1.9 x 10 <sup>9</sup> - 6.3 x 10 <sup>9</sup>		Kve/ml
	Vivant et al. (2017)	Varken			3.1 x 10 <sup>7</sup> - 3.8 x 10 <sup>7</sup>		Kve/ml



Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie	Gemiddelde concentratie	Eenheid
					[MIN-MAX]		
<i>Mycobacterium bovis</i>	Barbier et al. (2016)	Rund	2 g	1/63 (1.6%)		$5.82 \times 10^1$	Kopieën/g
<i>Salmonella</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	34/118 (29%)	$3.7 \times 10^2 - 1.9 \times 10^5$	$6.3 \times 10^3$	Kopieën/g
	Cumming et al. (2010)	Rund		409/1857 (22.0%)	$10^2 - 10^7$		Organismen/g
	Mannion et al. (2007)	Varken			$10^2 - 10^5$		Kve/ml
	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			$7.4 \times 10^3$	Kve/g
	Pires et al. (2013)	Varken	10 g	443/1668 (26.5%)	$1.1 \times 10^3 - 1.7 \times 10^6$		Kve/g
Somatische colifagen	Shepherd et al. (2010)	Rund				$2 \times 10^8$	Kve/g
	Krog et al. (2017)	Varken			$2.1 \times 10^5 - 2.3 \times 10^5$		Pve/ml

Kve = kolonie vormende eenheden; Pve= plaque vormende eenheden

## 2.2 Resistente bacteriën

Mest is een belangrijke bron van antibiotica-resistentie (ABR) in het milieu (Schmitt, Blaak et al. 2017). Mest kan antibioticaresistente bacteriën zoals extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producerende *Enterobacteriaceae* (ESBL-Ent) of methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) bevatten, ook nog na opslag (Huijbers, Blaak et al. 2015, van Leuken, Hoeksma et al. 2017, Blaak, Kemper et al. 2019, Schmitt, Blaak et al. 2019). Dergelijke bacteriën zijn ongevoelig voor behandeling met antibiotica (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu 2020). Antibioticaresistente bacteriën zoals ESBL-producerende *E. coli* of MRSA werden in mest en lucht rond veehouderij en afvalwaterzuiveringsinstallaties gevonden (Huijbers, Blaak et al. 2015). Wanneer er emissies uit MBIs vrijkomen, zouden er dus ook antibioticaresistente bacteriën in de lucht rond MBIs kunnen komen.

## 2.3 Indicatoren

### 2.3.1 *Algemene eigenschappen van indicatoren*

Indicatoren worden gebruikt om de aanwezigheid van fecale contaminatie aan te tonen. De Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) heeft bijvoorbeeld een aantal criteria voor fecale indicatoren in recreatiewater opgesteld (World Health Organization 2006). Deze zijn:

- De indicator moet in het onvervuilde milieu afwezig zijn en aanwezig als de bron van de ziekteverwekkende micro-organisme (fecaal materiaal) aanwezig is;
- De indicator moet in hogere aantallen aanwezig zijn dan de ziekteverwekkende micro-organismen;
- De indicator moet op een vergelijkbare wijze op natuurlijke milieucondities en bewerkingsprocessen reageren als de ziekteverwekkende micro-organismen;
- De indicator moet makkelijk te isoleren, identificeren en te kwantificeren zijn;
- De testen waarmee de indicator kan worden gekwantificeerd moeten betaalbaar zijn, zodat meerdere monsters geanalyseerd kunnen worden.

### 2.3.2 *Gewenste eigenschappen van geschikte indicatoren uit MBIs*

Mogelijke indicatororganismen voor emissies van potentieel risicovolle micro-organismen in lucht afkomstig uit MBIs moeten aan bepaalde eisen voldoen. Ook volgens Maassen, Smit et al. (2016) zijn de volgende eigenschappen van belang voor indicatoren bij emissies van pathogenen uit MBIs:

- De indicator moet altijd voorkomen in mest en met een redelijk hoge concentratie. Verder zou een indicatororganisme ook aan de eisen voldoen als deze ook in lage concentraties goed meetbaar is (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017);
- De indicator moet de mestbewerking overleven en in bioaerosolen terecht kunnen komen;
- De indicator voor emissies bij mestbewerkingstechnieken die hoge temperaturen gebruiken, moet thermofiel/hitte-resistent zijn;
- De indicator hoeft niet noodzakelijk een pathogeen te zijn, maar wel een indicatie geven of het organisme het proces overleeft en zich vervolgens door de lucht verspreidt;
- De indicator moet in de lucht overleven.

### 2.3.3 Mogelijke indicatoren

*E. coli*, *Clostridium* en bacteriofagen zijn voorbeelden van fecale indicatororganismen die door mest in de lucht terecht kunnen komen (Ko, Simmons III et al. 2008). Daarbij wordt *E. coli* het meest genoemd als betrouwbare indicator voor fecale verontreiniging (Manyi-Loh, Mamphweli et al. 2016). Ook enterokokken en somatische colifagen zijn indicatoren voor fecale contaminatie (Graves, Weaver et al. 2009, Hoeksma, Rutjes et al. 2016, Thiel, Münch et al. 2020). Een Nederlandse studie over veehouderij en gezondheid van omwonenden heeft *E. coli* en *Staphylococcus spp.* als indicatororganismen voor het bepalen van pathogenen uit veehouderijen ingezet (Maassen, Smit et al. 2016). Deze keuze was gemaakt omdat deze organismen in hoge aantallen in de buitenlucht rondom veehouderijen meetbaar werden geacht. Mogelijk kunnen ook HEV, *Clostridium* of *Campylobacter* als indicator dienen. Zij zijn ook in lage concentraties meetbaar en potentiële ziekteverwekkers (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Daarnaast zouden ook endotoxine en fijnstof mogelijk als indicator gebruikt kunnen worden (Maassen, Smit et al. 2016). Endotoxinen zijn schadelijke bestanddelen van dode Gram-negatieve bacteriën (Traversi, Gorrasi et al. 2015). Deze kunnen luchtwegklachten veroorzaken (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu 2016). Volgens Martinez, Dabert et al. (2009) kunnen endotoxines ook allergische reacties veroorzaken. Endotoxines worden vaak in fijnstof deeltjes (PM<sub>10</sub>) gevonden en kunnen in vorm van bioaerosolen door de lucht transporteren. Ook andere ziekteverwekkende micro-organismen worden vaak met PM<sub>10</sub> door de lucht gedragen (Li, Li et al. 2019). Dit maakt PM<sub>10</sub> nog schadelijker voor de gezondheid (Traversi, Gorrasi et al. 2015).

## 2.4 Hoe pathogenen en indicatoren uit mest in de lucht kunnen komen

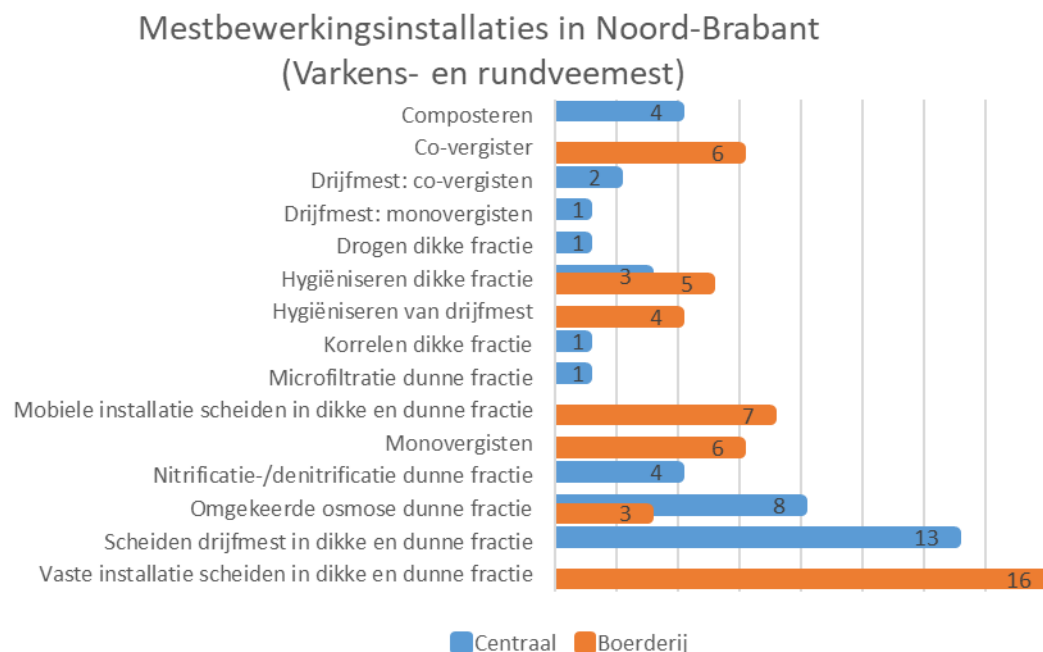
Ziekteverwekkende micro-organismen uit mest kunnen in het milieu terecht komen en mogelijk via bioaerosolen in de buitenlucht verspreid worden (van Leuken, Hoeksma et al. 2017). Bioaerosolen zijn stofdeeltjes die geheel of gedeeltelijk een biologische bron hebben (Wéry 2014). Vaak worden bioaerosolen vanuit waterbronnen door bewegende processen (opspattend water of turbulente bewegingen) geproduceerd. Tijdens het bemesten van het land met vloeibare mest kunnen micro-organismen uit de mest bioaerosolen vormen (Dungan 2010). Omdat tijdens mestbewerking ook bewegingsprocessen plaatsvinden, zoals scheiden van mest of draaien en roteren van compost, zouden ook hierbij bioaerosolen kunnen ontstaan. De grootte van bioaerosolen varieert tussen 0.02 en 100 µm in diameter (Pillai and Ricke 2002). Aerosolen tussen 1 en 5 µm zijn de meest kritische omdat deze gemakkelijk geïnhaleerd worden. Kleinere deeltjes van 1 tot 2 µm kunnen diep in de longen terecht komen (Dungan 2010).



### 3 Mestbewerkingsinstallaties

#### 3.1 Wat zijn de meest voorkomende?

In Noord-Brabant worden allerlei mestbewerkingstechnieken toegepast (Figuur 1). Daarbij kan onderscheid gemaakt worden tussen mestbewerking op bedrijfsniveau of op een centrale locatie. Deze installaties variëren ook in grootte. In een installatie worden vaak meerdere specifieke technieken gecombineerd. Bovendien wordt er onderscheid gemaakt tussen de bewerking van vaste mest of drijfmest. Hiervoor is mestscheiding in de dikke en dunne fractie vaak de eerste stap in de mestbewerkingsketen (de Buisonjé, Melse et al. 2013). Het scheiden van de dikke en dunne fractie kan in een vaste of in een mobiele installatie. Vervolgens worden er technieken zoals co-vergisting (mest en co-producten), monovergisting (alleen mest), hygiëniseren en composteren toegepast. Van deze technieken is hygiëniseren de enige mestbewerking met als doel het verminderen van de microbiologische risico's. (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Andere mestbewerkingstechnieken hebben het doel om mest zodanig te veranderen dat bijvoorbeeld transportkosten verlaagt worden (Woltjer and Smits 2019).



Figuur 1 Mestbewerkingsinstallaties met een vergunning in Noord-Brabant (Varkens- en rundveemest)

Omdat vooral varkensbedrijven weinig grond hebben en daarom een mestoverschot produceren, wordt naast rundmest veel varkensmest bewerkt. Alle pluimveemest in Noord-Brabant wordt al in centrale mestbewerkingstechnieken verbrand en afgezet (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019, Provincie Noord-Brabant

2019). De contouren van het nieuwe mestbeleid geven ook aan dat mest alleen mag worden uitgereden op uitsluitend grondgebonden land (Ministerie van Landbouw Natuur en Voedselkwaliteit 2020). Intensieve varkensbedrijven zijn niet grondgebonden, en volgens deze contouren van het nieuwe mestbeleid zou alle varkensmest dus bewerkt moeten worden. Omdat daardoor meer mestbewerkingscapaciteit voor runderen- en varkensmest nodig is, richt dit rapport zich vooral op varkens- en rundveemest.

### 3.2 Mestbewerking en overlevingskansen van pathogenen in mest

Verschillende mestbewerkingstechnieken, zoals opslaan van mest, vergisting en compostering hebben een reducerend effect op de overleving van pathogenen in mest (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Mestopslag van meerdere maanden kan al een reducerend effect op ziekteverwekkers hebben (Martinez, Dabert et al. 2009). De eigenschappen van verschillende pathogenen variëren in hoge mate, waardoor niet elke micro-organisme dezelfde reductie door een bepaalde mestbewerkingstechniek laat zien. Thermofiele bacteriën overleven hogere temperaturen en gedijen juist tijdens compostering (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Mestbewerkingstechnieken met een temperatuurbehandeling zoals thermofiele vergisting, hygiënisatie en verbranding zijn volgens Schmitt, Blaak et al. (2017) het meest kansrijk voor de reductie van emissies van (antibioticaresistente) bacteriën.

#### *Scheiden dikke en dunne fractie*

Zoals in *figuur 1* getoond wordt, is de meest gebruikte mestbewerkingstechniek in Noord-Brabant het scheiden van de dikke en de dunne fractie van mest. De dunne fractie is de vloeibare mest en onder de dikke fractie wordt vaste mest verstaan. Dit kan via mechanische scheiding (zeven of filteren met zeefbandpers of trommelfilter), bezinken in een mestput, gescheiden opvang (direct na uitscheiding) of een strofilter gebeuren. Volgens een studie van Burch, Spencer et al. (2018) werden de meeste microben en de hoogste concentraties in de dunne fractie van de gescheiden mest gedetecteerd. In een studie van Hoeksma, Aarnink et al. (2015) werd geen effect van mechanische scheiding op de vermindering van de micro-organismen in mest gevonden. In deze studie bevonden de micro-organismen zich vooral in de vaste fractie. De resultaten van Burch, Spencer et al. (2018) en Hoeksma, Aarnink et al. (2015) zijn dus verschillend en laten zien dat scheiden van mest geen groot effect heeft op het afsterven van micro-organismen. De hoogste concentraties van micro-organismen kunnen zich dus zowel in de dunne als in de dikke fractie bevinden.

#### *Omgekeerde osmose*

Bij omgekeerde osmose wordt de dunne fractie van mest onder hoge druk in een mineralenconcentraat en een permeaat verwerkt. Het permeaat is gezuiverd zodat het weer op het oppervlaktewater geloosd kan worden (effluent). Volgens Hoeksma, Aarnink et al. (2015) is het effluent na dit proces microbiologisch schoon. Bij de productie van mineralenconcentraat (mechanische scheiding, flotatie en omgekeerde osmose) overleven vooral Gram-positieve bacteriën, zoals enterokokken

iets beter dan Gram-negatieve bacteriën en virussen (Hoeksma, Aarnink et al. 2015).

Voordat omgekeerde osmose op de dunne fractie toegepast wordt, wordt vooraf via *microfiltratie* organische stof uit de dunne fractie verwijderd. Dit gebeurt in gesloten systemen (de Buisonjé, Melse et al. 2013). Tijdens opslag, legen of vullen kunnen echter wel micro-organismen vrij komen.

### *Composteren*

Onder composteren (aerobe vergisting) kunnen verschillende technieken worden verstaan die van een kleine composthoop tot een grootschalig composteerbedrijf kunnen variëren. Er zijn drie thermofiele composteringssystemen: beluchte statische composthoven, composthoven die gedraaid worden en composteersystemen in-vessel (Youngquist, Mitchell et al. 2016). Het compost wordt omgezet of er wordt lucht doorheen geblazen, om een voldoende hoog zuurstofgehalte te bewerkstelligen. Hierdoor kunnen hoge emissies van fijnstof optreden (de Buisonjé, Melse et al. 2013). Dit betekent ook dat mogelijk ziekteverwekkers vrij kunnen komen. Bij gesloten systemen kan een luchtwasser de fijnstofemissies reduceren, maar over de effectiviteit van luchtwassers op reductie van micro-organismen is, behalve over kweekbare bacteriën, nog weinig bekend (Carpenter 1986, Carpenter and Fryer 1990).

Tijdens composteren van mest zijn er drie fasen die door verschillende temperaturen gekarakteriseerd worden. Hierdoor kan de samenstelling van de microbiële gemeenschappen veranderen: micro-organismen verdringen tijdens hun optimale groeitemperatuur andere micro-organismen. In de mesofiele fase ligt de temperatuur onder 50°C, wat niet hoog genoeg is om pathogenen te inactiveren. Onder deze condities (15-50°C) zijn meer Gram-negatieve bacteriën zoals *E. coli* en *Salmonella* aanwezig (Hagens, Rutjes et al. 2011). Mesofiele vergisting heeft maar een heel gering reducerend effect op enterokokken (Hoeksma, Rutjes et al. 2016). Volgens Hagens, Rutjes et al. (2011) bestaat de mogelijkheid dat pathogenen tijdens deze fase overleven en verder verspreid kunnen worden in vorm van bioaerosolen. Onder goed gecontroleerde condities, stijgt de temperatuur voor de thermofiele fase tot boven 70°C, waarbij ook thermofiele bacteriën gereduceerd worden. De laatste fase houdt de afkoeling in, waarbij resterende moleculen worden afgebroken (Hagens, Rutjes et al. 2011). Een studie van Thiel, Münch et al. (2020) liet zien dat ESBL producerende-*E. coli* onder aerobe condities al na 72 uur geïnactiveerd werden. In een andere studie van Gao, Qiu et al. (2018) werd aangetoond dat resistentiegenen niet door composteren gereduceerd worden en dat sommige zelfs toenemen. Wel noemen Youngquist, Mitchell et al. (2016) dat composteren niveaus van antibioticaresistentie-genen in mest significant reduceert, terwijl thermofiele methodes antibioticaresistente bacteriën het meest effectief reduceren. In compost werden totale coliformen en *E. coli* binnen zeven dagen geïnactiveerd (4 log<sub>10</sub>-eenheden reductie). *Salmonella* werd binnen 20 dagen onder een stijgende temperatuur van 64°C tot 99% (7 log<sub>10</sub>-eenheden reductie) gereduceerd (Manyi-Loh, Mamphweli et al. 2016). Ook HEV werd na het composteringsproces niet meer aangetroffen (García, Fernández-Barredo et al. 2014).

Als ziekteverwekkers door het bewerken van mest niet compleet geïnactiveerd worden, is hergroei van ziekteverwekkers onder gunstige omstandigheden waarschijnlijk. Door factoren als de heterogeniteit van composthopen, het type mest, het vochtgehalte en de weersomstandigheden is het mogelijk dat ziekteverwekkers in mest niet compleet geïnactiveerd worden (Biswas, Niu et al. 2018). Volgens Berry, Millner et al. (2013) kunnen ziekteverwekkers zo maanden op het oppervlak van composthopen overleven.

### *Biovergisting*

In een co-vergister wordt anaerobe digestie toegepast. Hierbij wordt zonder aanwezigheid van zuurstof mest in biogas en een meststof (digestaat) omgezet. Tijdens de anaerobe digestie wordt een aantal pathogenen gereduceerd (Manyi-Loh, Mamphweli et al. 2016). Aerobe bacteriën zijn afhankelijk van zuurstof om zich te kunnen vermenigvuldigen en te overleven. Omdat er geen zuurstof aanwezig is, zouden zich alleen anaerobe bacteriën, zoals *Clostridium*, kunnen vermeerderen. Virussen kunnen dit proces ook overleven, maar hebben levende organismen nodig om zich te verveelvoudigen. Sporevormende bacteriën, zoals *Clostridium* en *Bacillus*, zijn bijzonder resistent tegen uitdroging of hoge temperaturen vanwege hun beschermende sporen (Heezen, Schalk et al. 2014, Manyi-Loh, Mamphweli et al. 2016). Ook overleven Gram-positieve bacteriën het proces beter dan Gram-negatieve bacteriën. Deze Gram-negatieve bacteriën, bijvoorbeeld *E.coli*, *Salmonella* en somatische colifagen worden sterk gereduceerd (Hoeksma, Rutjes et al. 2016). Voor *E. coli* noemen Manyi-Loh, Mamphweli et al. (2016) een log<sub>10</sub>-eenheden reductie van 2.5 (reductie van 99.67%). Ook *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Cryptosporidium* en *Giardia*, totale coliformen en enterokokken worden door anaerobe digestie geïnactiveerd (Heezen, Schalk et al. 2014, Manyi-Loh, Mamphweli et al. 2016). Glaeser, Sowinsky et al. (2016) lieten zien dat antibioticaresistente enterokokken wel het mestvergistingsproces overleefden en zo mogelijk naar het milieu kunnen vrijkomen. In een studie van Qi, Pan et al. (2019) werden behalve *Campylobacter* ook alle andere bacteriën door anaerobe digestie verwijderd. Burch, Spencer et al. (2018) hebben, in vergelijking met verwachtingen uit de literatuur, echter een slechte inactivatie van micro-organismen door anaerobe digestie vastgesteld. De exponentiele afname door mesofiele anaerobe digestie met een doorlooptijd van 20 dagen bleek een halfwaardetijd van 14 uur te hebben. Waarschijnlijk heeft de temperatuur een groot effect. In een andere studie kon *Salmonella* bijvoorbeeld wel na mesofiele digestie gedetecteerd worden (Bagge, Sahlström et al. 2005) en ook ESBL producerende- *E. coli* werd in een Duitse studie na mesofiele mestvergisting aangetroffen, wat duidelijk maakt dat anaerobe digestie ESBL producerende- *E.coli* wel reduceert, maar niet verwijdert (Schauss, Glaeser et al. 2015).

### *Hygiëniseratie*

Een andere vorm van biovergisting is hygiëniseratie. Hygiëniseratie houdt in dat de meststof, ook digestaat genoemd, dat bij biovergisting ontstaat, gepasteuriseerd wordt. Dit betekent dat het digestaat minimaal een uur boven de 70°C wordt verhit met het doel om pathogenen uit mest te inactiveren (Heezen, Schalk et al. 2014). Ook verwijst de NVWA naar hygiëniseratie als mest "een andere thermische of chemische behandeling



heeft ondergaan waarvan in een speciaal onderzoek ("validatie") is aangetoond dat het ziekteverwekkers in voldoende mate afdoodt" (Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit 2020).

Hygiënisatie kan als een continu proces of in batches plaatsvinden. Volgens Bagge, Sahlström et al. (2005) heeft hygiënisatie in batches de voorkeur omdat de bewerkingstijd beter gereguleerd kan worden, waardoor de reductie van pathogenen beter gecontroleerd kan worden. Bij deze hoge temperaturen lijken alleen Gram-positieve bacteriën te kunnen overleven. Weer worden sporevormende bacteriën zoals *Bacillus* en *Clostridium* genoemd, omdat deze bacteriën minder gevoelig zijn voor verhitting en dus resistenter voor dit extreme milieu zijn en overleven (Heezen, Schalk et al. 2014, Scheinemann, Dittmar et al. 2015, Hoeksma, Rutjes et al. 2016). Ook overleven hitte-stabiele virussen zoals HEV of het porcine parvovirus het proces (Heezen, Schalk et al. 2014).

HEV kan ook in lucht terecht komen, zoals Courault, Albert et al. (2017) hebben aangetoond. Terwijl pathogenen door een hittebehandeling geïnactiveerd kunnen worden, heeft dit geen effect op endotoxinen (Ko, Simmons et al. 2010). Volgens Scheinemann, Dittmar et al. (2015) zijn enterokokken bruikbare indicatoren om een effectieve hygiënisatie te testen omdat enterokokken in hoge concentraties in mest voorkomen en na een paar dagen geïnactiveerd worden.

### *Drogen*

Na mestscheiding kan de dikke mestfractie gedroogd worden. Hierbij wordt het vochtgehalte gereduceerd, waarbij de nutriënten in de dikke fractie geconcentreerd worden (Kennissplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Droging bij 70°C wordt ook als hygiënisatie erkend. In droge mest hebben Graves, Weaver et al. (2009) echter meer enterokokken aangetoond dan in verse mest. Na het drogen kan door het afkoelen condenswater ontstaan, wat stofdeeltjes vasthoudt. Dit vervuilde condenswater kan weer door microfiltratie gezuiverd worden (de Buissonjé, Melse et al. 2013).

Een vervolgstap van drogen kan het *korrelen* van mest zijn, waarbij korrels (pellets) worden geproduceerd. Ook tijdens drogen kunnen emissies voorkomen, en bijvoorbeeld fijnstof vrijkomen.

### *Nitrificatie / denitrificatie*

Nitrificatie/denitrificatie wordt toegepast om stikstof uit mest te reduceren. Hierbij wordt het nitraat uit de dunne fractie na het scheiden onder toevoeging van lucht in stikstofgas gevormd (de Buissonjé, Melse et al. 2013). Dit gebeurt in een open systeem en er worden luchtbellen ingebracht waardoor aerosolisatie mogelijk kan zijn. Uit een studie van Vanotti, Millner et al. (2005) blijkt nitrificatie/denitrificatie na mestscheiding een effectieve techniek te zijn om ziekteverwekkers, zoals *E. coli*, enterokokken en *Salmonella* uit mest te reduceren (Vanotti, Millner et al. 2005, van Leuken, Hoeksma et al. 2017).

In de tabel "*Ziekteverwekkers en indicatoren in bewerkte mest*" in de *Annex* wordt een aantal ziekteverwekkers en indicatoren in bewerkte mest gepresenteerd. Deze tabel is met data uit de literatuurstudie gevoed. Dit overzicht geeft aan wat de veranderingen van de concentraties van biologische agentia in mest zijn nadat verschillende mestbewerkingstechnieken toegepast zijn. Dit overzicht is nog niet

systematisch uitgevoerd, zoals in *tabel 1* (ziekteverwekkers in verse/onbewerkte mest). Dit zou nog nader uitgewerkt kunnen worden. Toch geeft deze tabel een idee over de overleving van ziekteverwekkers na bepaalde mestbewerkingstechnieken.

*Campylobacter* blijkt door mestbewerking niet te verminderen. Opvallend was dat na anaerobe digestie en composteren zelfs hogere concentraties dan in verse mest aangetroffen werden. Concentraties van *Clostridium*, *E. coli*, HEV, en somatische colifagen werden wel gereduceerd, maar niet volledig verwijderd. Deze biologische agentia waren na mestbewerking nog steeds in hoge aantallen aanwezig. *Salmonella* komt in verse mest in hoge aantallen voor, en werd door de verschillende mestbewerkingstechnieken significant gereduceerd. Behalve na anaerobe digestie werd *Salmonella* nog in redelijk hoge concentraties aangetroffen. Parasieten zoals *Listeria* en *Cryptosporidium* zijn ook aanwezig in verse mest, maar werden niet meer na mestbewerking aangetroffen (Burch, Spencer et al. 2018). Verder is ook de vraag of parasieten in de lucht terecht kunnen komen. *Cryptosporidium* wordt vooral door water overdragen (Vermeulen, Benders et al. 2017). De meest effectieve behandeling blijkt omgekeerde osmose te zijn. Zoals in de tabellen in de *Annex* en in de volgende alinea aangegeven, is het permeaat na omgekeerde osmose nagenoeg schoon. In de volgende alinea's zijn de concentraties van biologische agentia in verse mest en bewerkte mest per indicator gecombineerd.

### 3.3 Overleving van biologische agentia in lucht

Sommige analyses kunnen de aanwezigheid van micro-organismen alleen aantonen als het micro-organisme mestbewerking heeft overleefd. Micro-organismen zijn in de lucht minder robuust dan in bodem, water of mest. *Campylobacter jejuni* werd bijvoorbeeld in de buitenlucht tot maximaal 100 m van boerderijen aangetoond. Of pathogenen ook in de buitenlucht overleven, hangt van de weersomstandigheden af (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Bioaerosolen die pathogenen uit mest bevatten, worden blootgesteld aan meteorologische factoren zoals luchtvochtigheid, temperatuur en UV licht. Dit wordt de "open-air factor" genoemd, wat de lagere overleving van micro-organismen in de buitenlucht beschrijft. Over het algemeen sterven micro-organismen in de lucht sneller af bij een lage luchtvochtigheid, een hogere temperatuur en een hoge UV-straling (Dungan, 2010). Door uitdroging in de lucht wordt een groot deel van de micro-organismen geïnactiveerd. Ook UV-straling heeft een inactiverend effect op micro-organismen in de lucht. UVA heeft geen effect op endotoxine, wat betekent dat endotoxine mogelijk de UV straling in de buitenlucht overleven (Wang, Lu et al. 2019). Daarnaast kunnen verschillende typen micro-organismen anders reageren op omstandigheden in de buitenlucht. De meeste bacteriën raken geïnactiveerd voordat zij aerosolen vormen uit mest omdat bacteriën gevoelig zijn voor open-air factoren. Virussen zijn dit minder. Inactivatie gebeurt het snelst bij Gram-negatieve bacteriën onder hoge temperaturen (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Virussen zijn dus resistenter tegen de inactiverende effecten van zuurstof en temperatuur. Virussen met een omhulsel bestaande uit lipiden zijn stabiel bij lage

luchtvochtigheid (Pillai and Ricke 2002). Dit geldt echter niet voor sporevormende bacteriën zoals *Clostridium spp.* (Dungan 2010).

### **3.4 Wat zijn goede indicatoren om te meten**

Het zou ideaal zijn om met maar één indicator alle mogelijke emissies te bepalen. Maar vanwege de verschillen in mestbewerkingstechnieken en de verschillende eigenschappen van de organismen, zijn meerdere indicatororganismen nodig.

Voor het aanwijzen van indicatororganismen bestaan meerdere uitgangspunten. Indien de waarschijnlijkheid van emissies, onafhankelijk van het type micro-organisme, het meest interessant is, is het belangrijk te kijken naar een indicatororganisme dat het beste overleeft na de verschillende bewerkingstechnieken en in de hoogste concentraties voorkomt. In dit geval zou bijvoorbeeld voor endotoxine gekozen kunnen worden. Indien het belangrijk is om emissies van alle mogelijke ziekteverwekkers mee te nemen, moeten er zeker één bacterie en één virus mee genomen worden als indicatoren. Indien van belang is om te onderzoeken of er werkelijk geen pathogenen meer uit een MBI komen, is een indicator organisme nodig wat zelf een pathogeen is met de hoogste prevalentie en overleving na de verschillende mestbewerkingstechnieken. In *tabel 2* zijn voorbeelden van geschikte indicatororganismen weergegeven. Deze overzichten laten de eigenschappen van de verschillende biologische agentia zien. Een sporevormer is resistent en overleeft de mestbewerkingprocessen het beste. De zuurstofbehoefte is aangegeven zodat bij het kiezen van geschikte indicatoren Gram-positieve en Gram-negatieve bacteriën gekozen kunnen worden. Deze verschillen ook qua overleving. Gram-positieve bacteriën blijken resistenter te zijn. Daarnaast wordt ook de hitte-resistentie getoond wat van belang is voor de mestbewerkingstechnieken met een temperatuurbehandeling.

Tabel 2 Eigenschappen van geschikte indicatoren om emissies van potentiële ziekteverwekkende micro-organismen uit MBIs te bepalen

Mogelijke indicatoren	Indicator voor	Gezondheidsrisico	Sporevormer	Zuurstofbehoefte	Hitte-resistent
<i>Clostridium spp.</i>	Gram-positieve Bacteriën	Enkele species uit het genus <i>Clostridium</i> zijn pathogeen	Ja	Anaeroob	Ja
Enterokokken	Gram-positieve Bacteriën	Ja	Nee	Facultatief anaeroob	Ja
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram-positieve Bacteriën	Ja	Nee	Facultatief anaeroob	Nee
<i>Campylobacter</i>	Gram-negatieve Bacteriën	Ja	Nee	Micro-aeroob	Ja
<i>E. coli</i>	Gram-negatieve Bacteriën	Hangt van de stam af	Nee	Facultatief anaeroob	Nee
Endotoxine	Gram-negatieve Bacteriën	Ja	n.v.t.	n.v.t.	Ja
Somatische colifagen	Virussen	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	Ja

Een mogelijke indicator voor emissies uit MBIs is *E. coli* (tabel 3). *E. coli* (0.5 x 2.0 µm) is facultatief anaeroob en representatief voor Gram-negatieve bacteriën (De Roda Husman and Schets 2010). Thermofiele anaerobe digestie (boven 55°C) blijkt Gram-negatieve indicatororganismen zoals *E. coli* effectiever te reduceren dan mesofiele anaerobe digestie (tussen 35 en 37°C) (Youngquist, Mitchell et al. 2016). Daarom zou *E. coli* een goede indicator voor emissies uit MBIs zijn die mesofiele temperaturen toepassen. Emissies zijn mogelijk uit de delen van de installaties waarin ruwe mest wordt bewerkt. Onder temperaturen tussen 15 en 55°C is *E. coli* in hoge aantallen aanwezig. Bovendien wordt beargumenteerd dat *E. coli* (naast enterokokken en somatische colifagen) een geschikte indicator is omdat *E. coli* in hoge concentraties voorkomt in drijfmest van varkens en rundvee (Hoeksma, Aarnink et al. 2015, Hagens, Hoeksma et al. 2017, Schmitt, Blaak et al. 2019). De concentraties van *E. coli* in tabel 3 blijken ook na verschillende mestbewerkingprocessen weinig te reduceren, wat *E. coli* een goede indicator maakt.

Tabel 3 Effecten van mestbewerkingstechnieken op de concentratie van *E. coli* in mest

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie [MIN-MAX]	Gemiddelde concentratie	Eenheid
<b>Verse mest</b>							
<i>E. coli</i>	Van Leuken et al. (2017)	Rund			1.5 x 10 <sup>4</sup> (MAX)	1.4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			3.6 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Von Salviati et al. (2015)	Varken		11/21 (52.4%)		6.5 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<b>Na anaerobe digestie</b>							
<i>E. coli</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund				3.6 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.4 - 10 x 10 <sup>2</sup>	5 x 10 <sup>2</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Qi et al. (2019)	Rund	3 g	not detected			
<b>Na composteren</b>							
<i>E. coli</i>	Berry et al. (2013)	Rund	10 g		2.0 - 5.3	2.2	Kve/g
<i>E. coli</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		5.0 x 10 <sup>4</sup> - 1.5 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<b>Na omgekeerde osmose: concentraat</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					4.9 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<b>Na omgekeerde osmose: permeaat</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Kve/g
<b>Na opslag</b>							
<i>E. coli</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		501 - 1.9 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<i>E. coli</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.2 - 10 x 10 <sup>4</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<b>Na scheiden: dunne fractie</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					8.4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<b>Na scheiden: vaste fractie</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					4.8 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g

Endotoxinen en fijnstof (PM<sub>10</sub>) zouden ook interessante indicatoren kunnen zijn, omdat zij zo resistent tegen hitte en andere stressfactoren zijn. Volgens Ko, Simmons et al. (2010) zou daarom een groot deel van endotoxinen overblijven ook in goed bewerkte mest. Endotoxinen geven een maat voor Gram-negatieve bacteriën, omdat het componenten van de celwand van Gram-negatieve bacteriën zijn. Zo hebben Ko, Simmons et al. (2010) een significante positieve correlatie van endotoxinen in lucht met totale kweekbare bacteriën aangetoond. Door de hoge temperatuur van sommige soorten mestbewerking wordt een aantal kweekbare ziekteverwekkers geïnactiveerd, waarbij endotoxinen hoge temperaturen kunnen overleven (Ko, Simmons et al. 2010). Daarom is een endotoxine puur een maat voor emissies, maar het kan niet aantonen of Gram-negatieve bacteriën nog leven. Ook fijnstof geeft alleen aan of emissies zijn opgetreden. Fijnstof is een verzamelbegrip en omvat deeltjes van verschillende grootte. Daarentegen zijn endotoxinen een specifiekere indicator.

Enterokokken (*tabel 4*) worden niet alleen vaak als fecale indicator gebruikt omdat zij in hoge concentraties in mest aangetroffen worden, maar zijn zij ook representatief voor emissies uit MBIs omdat enterokokken resistent zijn tegen een aantal mestbewerkingstechnieken (Bagge, Sahlström et al. 2005). Mesofiele vergisting heeft een heel gering reducerend effect op enterokokken (Hoeksma, Rutjes et al. 2016). Na anaerobe digestie en opslag waren deze bacteriën weer te meten, dus overleeft een deel van de enterokokken de bewerking en groeit mogelijk weer uit (Heezen, Schalk et al. 2014). De Gram-positieve, facultatief anaerobe bacteriën zijn volgens Scheinemann, Dittmar et al. (2015) de gewenste indicator voor het testen van hygiënisatie.

Omdat Gram-positieve bacteriën processen zoals compostering beter overleven dan Gram-negatieve, is het van belang om een Gram-positieve bacterie als indicator te gebruiken. *Staphylococcus aureus* zou Gram-positieve bacteriën ook goed kunnen representeren. Ook *Staphylococcus* wordt, naast *E. coli*, al vaak als fecale indicator gebruikt omdat deze in hoge concentraties in mest voorkomt. Volgens Kozajda, Ježak et al. (2019) kan *Staphylococcus aureus* een droog milieu, zoals in stof, goed meerdere maanden overleven en na aerosolvorming nog infectieus zijn voor blootgestelde individuen. Bovendien werden ook antibiotica-resistente stafylokokken na mestbewerking aangetroffen. Een variant is de methicilline-resistente *Staphylococcus aureus*, MRSA, die voor meerdere antibiotica ongevoelig (resistent) is. Een andere variant, de zogenaamde vee-gerelateerde MRSA komt vooral bij varkens voor. Stafylokokken en enterokokken hebben vergelijkbare eigenschappen, maar enterokokken kunnen de meeste mestbewerkingprocessen beter overleven. Omdat stafylokokken wel in lage concentraties en ook in de buitenlucht overleven, moet overwogen worden om naast enterokokken ook stafylokokken als indicator te gebruiken.

Tabel 4 Effecten van mestbewerkingstechnieken op de concentratie van enterokokken in mest

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie [MIN-MAX]	Gemiddelde concentratie	Eenheid
<b>Na anaerobe digestie</b>							
<i>Enterococcus</i> (Vancomycin-resistente)	Martinez et al. (2009)	Varken			0.1 - 6 x 10 <sup>3</sup>	4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Glaeser et al. (2016)	Rund, Varken	10 g	1/2 (50%)			
<b>Na hygiëniseren</b>							
<i>Enterococcus</i>	Scheinemann et al. (2015)	Rund			10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>		Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Bagge et al. (2005)	Rund, Varken	100 g	1/24 (4%)		3.1 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
<b>Na nitrificatie / denitrificatie</b>							
<i>Enterococcus</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				42.7	Kve/ml
<b>Na omgekeerde osmose: concentraat</b>							
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					2.6 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<b>Na omgekeerde osmose: permeaat</b>							
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.3	Kve/g
<b>Na opslag</b>							
<i>Enterococcus</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.1 - 14 x 10 <sup>4</sup>	4 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<b>Na scheiden: dunne fractie</b>							
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				6 x 10 <sup>4</sup>	Kve/ml
<b>Na scheiden: vaste fractie</b>							
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					4.3 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g

Virussen, zoals HEV, komen in Nederlandse varkens veelvuldig voor (Rutjes, Lodder et al. 2007) en kunnen vervolgens ook in de lucht aangetoond worden (Maassen, Smit et al. 2016, Courault, Albert et al. 2017). Het is niet duidelijk op welke manieren mensen in Nederland besmet raken met HEV, maar contact met mest zou een mogelijke besmettingsbron zijn (Bouwknegt, Rutjes et al. 2009, Nijdam, Dusseldorp et al. 2020). Daarnaast kan HEV in lage concentraties gemeten worden, wat een belangrijk kenmerk is voor een geschikte indicator (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Bovendien is HEV hitte-stabiel en kan mestbewerkingprocessen overleven (tabel 5). Als infectieuze HEV in de lucht worden aangetoond, dan kunnen zij zodra zij een gastheer hebben gevonden, deze besmetten en zo een nieuwe infectie veroorzaken. Idealiter zouden HEV gemeten moeten worden, maar de methodiek is ingewikkeld. Somatische colifagen zijn bacteriofagen die *E. coli* bacteriën via de celwand infecteren. Deze fagen worden ook in hoge concentraties in mest aangetroffen (Krog, Forslund et al. 2017). HEV en somatische colifagen hebben vergelijkbare

karacteristieken, zoals grootte en lading (Ferguson, Husman et al. 2003, Gentry-Shields, Myers et al. 2015). Somatische colifagen kunnen daarom als indicator voor HEV gebruikt worden (de Roda Husman, Ketelaars et al. 2006, Hoeksma, Rutjes et al. 2016, Krog, Forslund et al. 2017). Ook in de drinkwaterzuivering worden somatische colifagen als parameter gebruikt om de effectiviteit van virus reductie te bepalen (Heijnen 2011).

Tabel 5 Effecten van mestbewerkingstechnieken op de concentratie van hepatitis E virus en somatische colifagen in mest

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie [MIN-MAX]	Gemiddelde concentratie	Eenheid
<b>Verse /onbewerkte mest</b>							
Hepatitis E virus	Givens et al. (2016)	Varken		2/2 (100.0%)	$2.8 \times 10^9 - 3.5 \times 10^{10}$		Kopieën /ml
	Zwettler et al. (2012)	Rund		1/2 (50.0%)		$1 \times 10^2$	Kopieën/g
Somatische colifagen	Krog et al. (2017)	Varken			$2.1 \times 10^5 - 2.3 \times 10^5$		Pve/ml
<b>Na omgekeerde osmose: concentraat</b>							
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					$1.1 \times 10^4$	Pve/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					$7.1 \times 10^4$	Pve/g
<b>Na omgekeerde osmose: permeaat</b>							
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					1.4	Pve/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Pve/g
<b>Na scheiden: dunne fractie</b>							
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					$3.8 \times 10^3$	Pve/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					$3.4 \times 10^4$	Pve/g
<b>Na scheiden: vaste fractie</b>							
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					$2.0 \times 10^4$	Pve/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					$1.7 \times 10^5$	Pve/g



Ook *Campylobacter* zou een interessante indicator voor emissies uit MBIs kunnen zijn. Zoals in *tabel 6* getoond blijkt *Campylobacter* verschillende mestbewerkingstechnieken te overleven (Inglis, McAllister et al. 2010). *Campylobacter* is micro-aerofiel, wat betekent dat de bacterie bij strikte anaerobe en aerobe condities relatief snel af zou sterven. In een studie van Manyi-Loh, Mamphweli et al. (2014) gebeurde dit na 18 dagen. Toch blijkt *Campylobacter* resistenter tegen milieu-invloeden te zijn dan verwacht. Bovendien is *Campylobacter* ook in lage concentratie meetbaar en werd nog 100 m van varkensstallen in de lucht aangetroffen (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017).

*Tabel 6 Effecten van mestbewerkingstechnieken op de concentratie van Campylobacter in mest*

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie [MIN-MAX]	Gemiddelde concentratie	Eenheid
<b>Verse /onbewerkte mest</b>							
<i>Campylobacter</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	77/118 (65%)	8.8x10 <sup>2</sup> - 2.4x10 <sup>5</sup>	1.0 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
	Frey et al. (2015)	Varken		2/2 (100.0%)		5.8 x 10 <sup>2</sup>	Cellen/g
	Krueger et al. (2008)	Rund		17/18 (94.4%)		1.2 x 10 <sup>3</sup>	Kve/ml
	Leblanc Maridor et al. (2008)	Varken			10 <sup>3</sup> - 10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	Kve/g
	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			10.1 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<b>Na anaerobe digestie</b>							
<i>Campylobacter</i>	Inglis et al. (2010)	Rund	5 g		> 10 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<i>Campylobacter</i>	Qi et al. (2019)	Rund	3 g		5.0 x 10 <sup>6</sup>		Kve/g
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	24/118 (19%)	9.1 x 10 <sup>2</sup> - 2.7 x 10 <sup>4</sup>	3.6 x 10 <sup>3</sup>	Kopieën/g
<b>Na composteren:</b>							
<i>Campylobacter</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			1.0 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<b>Na scheiden: dunne fractie</b>							
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	13/134 (10%)	2.5 x 10 <sup>3</sup> - 1.0 x 10 <sup>6</sup>	3.5 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
<b>Na scheiden: vaste fractie</b>							
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	15/125 (12%)	5.5 x 10 <sup>1</sup> - 5.2 - 10 <sup>3</sup>	4.0 x 10 <sup>2</sup>	Kopieën/g

Bovendien is het belangrijk om een robuuste indicator te kiezen die de mestbewerking kan overleven. Naar de bevindingen van Hoeksma, Rutjes et al. (2016) zouden sporen van Gram-positieve bacteriën, zoals *Clostridia spp.* hieraan kunnen voldoen, omdat deze de mestbewerkingstechnieken kunnen overleven en in grote aantallen in mest worden gevonden (tabel 7). Dit zou aan hun dikkere celwand liggen waardoor Gram-positieve bacteriën meestal langer in het milieu overleven (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Bovendien is *Clostridium* een genus van sporevormende bacteriën en daardoor bijzonder resistent tegen uitdroging en hoge temperaturen (Heezen, Schalk et al. 2014). Ook is *Clostridium* resistentier tegen zuurstof dan andere bacteriën en kan daardoor in de buitenlucht overleven (Dungan 2010). Daarnaast werd *Clostridium perfringens* het meest frequent (tot 54.2% van alle monsters) in de lucht rond MBIs gevonden (Ko, Simmons Iii et al. 2008). Naast *Clostridium difficile* is *Clostridium perfringens* een relevante pathogeen binnen de genus *Clostridium*.

Tabel 7 Effecten van mestbewerkingstechnieken op de concentratie van *Clostridium* in mest

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie [MIN-MAX]	Gemiddelde concentratie	Eenheid
<b>Verse / onbewerkte mest</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	81/118 (69%)	$6.0 \times 10^2 - 2.4 \times 10^6$	$2.2 \times 10^4$	Kopieën/g
<b>Na anaerobe digestie</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Bagge et al. (2005)	Rund, Varken	100 g	29/29 (100%)		$2.5 \times 10^4$	Kve/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	23/119 (19%)	$2.4 \times 10^3 - 3.8 \times 10^5$	$2.9 \times 10^4$	Kopieën/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			$0.1 - 52 \times 10^3$	$8 \times 10^3$	Kve/g
<b>Na opslag</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			$0.5 - 4 \times 10^3$	$1 \times 10^3$	Kve/g
<b>Na scheiden: dunne fractie</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	9/130 (7%)	$2.5 \times 10^3 - 7.8 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	Kopieën/g
<b>Na scheiden: vaste fractie</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	17/115 (15%)	$1.6 \times 10^2 - 8.3 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	Kopieën/g

In *tabel 8* is een samenvatting van de mestbewerkingstechnieken gepresenteerd. Hierin staan ook de bijhorende karakteristieken. Ook wordt aangegeven welke biologische agentia deze technieken kunnen overleven en een geschikte indicator voor emissies uit deze MBIs zouden kunnen vormen. Deze zijn gebaseerd op de eigenschappen van de biologische agentia en aanwijzingen uit de literatuur zoals hierboven beschreven.

*Tabel 8 Overlevingsfactoren van indicatoren in relatie tot karakteristieken van mestbewerkingstechnieken*

<b>Type mest-bewerking</b>	<b>Open / gesloten systeem</b>	<b>Lucht-wasser</b>	<b>Temperatuur</b>	<b>Zuurstof</b>	<b>pH</b>	<b>Biologische agentia met grootste overlevingskans</b>
Composteren	Open	Nee	45-71°C	Aeroob	7-8	<i>Campylobacter</i> , <i>E. coli</i> , Enterokokken
Composteren (industrieel)	Gesloten	Ja	70°C	Aeroob	7-8	<i>Campylobacter</i> , <i>E. coli</i> , Enterokokken
Drogen	Gesloten	Ja	>70°C	Aeroob	8	<i>Campylobacter</i> , <i>Clostridium</i> , Enterokokken, somatische colifagen
Hygiëniseren	Gesloten	Ja	>70°C	Anaeroob	5-6	<i>Clostridium</i> , Enterokokken, somatische colifagen
Nitrificatie / denitrificatie	Open	Nee		Aeroob	<8	<i>Campylobacter</i> , <i>Clostridium</i> , somatische colifagen
Omgekeerde osmose	Gesloten	Ja		Aeroob	8	<i>E. coli</i> , Enterokokken, somatische colifagen
Opslag	Open	Nee	10-30°C	Aeroob / Anaeroob	7	<i>Campylobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>E. coli</i>
Scheiden	Open en gesloten			Aeroob	7	<i>Campylobacter</i> , <i>Clostridium</i> , Endotoxine, Enterokokken, somatische colifagen
Vergisting	Gesloten	Ja	35-40°C (mesofiel) 50-55°C (thermofiel)	Anaeroob	6-8	<i>E. coli</i> (mesofiel), <i>Clostridium</i> (thermofiel), <i>Campylobacter</i> , Enterokokken, somatische colifagen



## 4 Emissie metingen

### *Karakteristieken van emissies uit mestbewerkingsinstallaties*

Er kunnen altijd biologische agentia vrijkomen zodra mest bewerkt wordt waaronder mogelijk pathogene micro-organismen (de Buisonjé, Melse et al. 2013). De emissies zijn echter afhankelijk van de manier waarop de mestbewerking wordt toegepast. Er is een reeks van verschillende MBIs die diverse technieken combineren. Er kan bij mestverwerkingsinstallaties onderscheid gemaakt worden tussen open en gesloten systemen. Vanuit open systemen kunnen meer emissies plaatsvinden (Ko, Simmons et al. 2010). Fijnstof, endotoxinen, micro-organismen en ammoniak kunnen bij open systemen (low-tech systemen zonder maatregelen) makkelijker naar de omgeving verspreiden en tot geuroverlast leiden (Hagens, Rutjes et al. 2011). Centrale, industriële MBIs zijn helemaal gesloten. In gesloten systemen met onderdruk zijn emissies onwaarschijnlijk (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Ook het laden en lossen vindt binnen de installatie plaats. Er wordt onderzocht of er mogelijke emissies kunnen plaatsvinden tijdens aan- en afvoer of het vullen of legen op het bedrijfsterrein.

De beleidsregel van de Provincie Noord-Brabant (Provincie Noord-Brabant 2018) noemt het "potdicht-principe" wat van het voorzorgsbeginsel uitgaat. Als de risico's van emissies nog onvoldoende bekend zijn, is het doel om helemaal geen emissies te hebben. Omdat er altijd wel emissies kunnen zijn, wordt het zo veel mogelijk reduceren van uitstoot van bioaerosolen naar de lucht nagestreefd. Dit kan het beste bereikt worden in gesloten systemen. Toch zijn veel installaties open systemen, waardoor zonder voorbehandeling bioaerosolen direct in de omgevingslucht terecht kunnen komen (Wéry 2014). Zo ontstaan emissies tijdens het scheiden van mest gedurende het gehele proces. Tijdens droging of compostering kunnen door het beluchten, omwerken en het ventileren van de ruimte emissies ontstaan. Dit kan aan de endotoxineconcentratie in de buitenlucht bijdragen (Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Pillai and Ricke (2002) verwijzen naar verhoogde risico's voor het inademen van endotoxines door werknemers in afvalwaterzuiveringsinstallaties. De endotoxineniveaus varieerden tussen 2 en 32000 ng/m<sup>3</sup> per lucht en waren het hoogst waar slib bewerkt werd. Zoals Hagens, Rutjes et al. (2011) in composteerbedrijven van GFT afval hebben ontdekt, komen bioaerosolen van mesofiele bacteriën vooral na het draaien van compost vrij. Kang, Kim et al. (2014) bevestigen dit en hebben vastgesteld dat bij het mechanische draaien van slib in composteerbedrijven dubbel zo veel endotoxinen in de lucht terecht komen, vergeleken met compostering zonder draaien. Ook kunnen door composteren beta-lactam resistentiegenen en *Staphylococcus* in de lucht terecht komen. Kang, Kim et al. (2014) hebben vaak *Bacillus* in compost monsters gedetecteerd en bovendien genen van *Bacillus* in luchtmonsters van het uitlaatgas vastgesteld. Emissies uit MBIs komen dus in pieken vrij, nadat bepaalde mestbewerkingsprocessen plaatsvinden. Vergeleken met MBI op bedrijfsniveau verschilt dit met MBI op centraal niveau, omdat centrale installaties, die ook vaak energie opwekken, continu aanstaan.

De concentraties van bioaerosolen uit MBIs nemen met de afstand van de bron snel af. Geverifieerd moet worden of de concentraties in de lucht op een bepaalde afstand ook daadwerkelijk van de MBI komen en niet van een andere bron (Wéry 2014).

### *Luchtwassers*

Luchtwassers zijn bedoeld om emissies te beperken. Zo hebben veel stallen en MBIs luchtwassers om de uitstoot van geur en ammoniak naar de buitenlucht te reduceren (de Buisonjé, Melse et al. 2013). De reductie van geur en ammoniakemissies geven echter niet aan dat ook minder ziekteverwekkers naar de buitenlucht uitstoten. Over de reductie van ziekteverwekkers door luchtwassers is voornamelijk weinig bekend. Er bestaan verschillende types luchtwassers, waaronder bijvoorbeeld chemische of biologische luchtwassers (Bartels, Schalk et al. 2013).

Biologische luchtwassers met bio-filter gebruiken micro-organismen om vervuild gas af te breken. In een studie van Aarnink, Landman et al. (2011) werden luchtmetingen voor en na de biologische luchtwassers bij stallen gedaan. In de lucht uit de luchtwasser was de bacteriële concentratie hoger dan in de stal zelf ( $6.1 \times 10^4$  kolonie vormende eenheden (kve) voor de luchtwasser en  $2.4 \times 10^5$  kve na de luchtwasser) wat duidt op groei van bacteriën in de luchtwasser.

In een studie van Li, Li et al. (2019) werd naar de optimalisatie van luchtwassers gekeken om de reductie van lucht overdraagbare ziekteverwekkers efficiënter te maken. Hiervoor werd geëlektrolyseerd water gebruikt en dit bleek in een luchtwasser ziekteverwekkers zoals *E. coli*, *S. aureus*, en *S. enteritidis* te reduceren. Geëlektrolyseerd water blijkt een effectieve methode in het reduceren van emissies van ziekteverwekkers te zijn. Dit komt door de lage pH waarde van het geëlektrolyseerde water (pH = 1.35). Nu gebruiken niet alle luchtwassers geëlektrolyseerd water, maar zodra een zure wasvloeistof wordt gebruikt, zou aangenomen kunnen worden dat ziekteverwekkers niet kunnen groeien of zelfs niet kunnen overleven. Dit is bijvoorbeeld ook aangetoond voor legionellabacteriën, die onder een zuurgraad onder de 4 waarschijnlijk niet groeien (Bartels, Schalk et al. 2013). Chemische luchtwassers gebruiken een zure wasvloeistof, waardoor ammoniak gebonden wordt. Het zou kunnen zijn dat ook ziekteverwekkers door een chemische luchtwasser gereduceerd worden. Aarnink, Landman et al. (2011) lieten zien dat de bacterieconcentratie in de lucht wel ietwat door chemische luchtwassers gereduceerd wordt. Van  $2.7 \times 10^5$  kve voor de chemische luchtwasser lag de concentratie na de chemische luchtwasser bij  $8.4 \times 10^4$  kve. Chemische luchtwassers reduceren de emissies van micro-organismen, maar nemen deze niet weg. De emissies van micro-organismen zijn dus ook na een chemische luchtwasser nog significant en zouden een risico kunnen vormen.

Een combinatie van een chemische en biologische luchtwasser blijkt effectiever in de reductie van ziekteverwekkende micro-organismen te zijn. Zo hebben Zhao, Aarnink et al. (2011) getoond dat combiwassers de bacteriële luchtconcentratie tot 85 % reduceren.

Luchtwassers reduceren deels geur, ammoniak en fijnstof, maar hebben blijkbaar weinig effect op de emissies van micro-organismen. Het is daarom belangrijk om ook na de luchtwassers van verschillende MBIs luchtmetingen uit te voeren.

### *Verspreiding en blootstelling rondom MBIs*

Nadat metingen rond MBIs gedaan zijn, kunnen de emissiemetingen gebruikt worden om de verspreiding van micro-organismen in te schatten. Zoals in de RIVM studie over veehouderij en gezondheid van omwonenden kan een luchtverspreidingsmodel gebruikt worden. Dit model geeft inzicht in het gedrag en het transport van micro-organismen uit MBIs (Hagenaars, Hoeksma et al. 2017). Er kan berekend worden aan welke aantallen van ziekteverwekkers omwonenden op de gemeten afstanden worden blootgesteld. Vervolgens kan dit vertaald worden naar mogelijke volksgezondheidsrisico's.

#### **4.1 Wanneer meten**

Om emissie pieken op het juiste moment te kunnen meten, moet bekend zijn wanneer de MBIs actief zijn. Ook zouden emissies tijdens transport naar de installatie kunnen plaatsvinden (Heezen, Schalk et al. 2014). Traversi, Gorrasi et al. (2015) lieten zien dat endotoxine vooral bij het laden vrijkomen. Daarom zouden metingen op dat moment gedaan kunnen worden, wanneer mest op het terrein van de installatie gebracht wordt. Omdat ook de windsnelheid de verspreiding van bioaerosolen in de atmosfeer beïnvloed zou daarmee en met windrichting rekening gehouden moeten worden (Courault, Albert et al. 2017).

Vanwege de verwachte variatie over de tijd van bacteriële concentraties in lucht zouden monsters herhaaldelijk genomen moeten worden (Kozajda, Jezak et al. 2019).

De overleving van ziekteverwekkers in mest en mestbewerking is vaak afhankelijk van het seizoen en de daarmee verbonden temperatuur (Berry, Millner et al. 2013). In wintermaanden overleven ziekteverwekkers in een composthoop beter vanwege de lage temperaturen. Daarom is het relevant om de metingen in verschillende seizoenen uit te voeren.

#### **4.2 Waar meten**

Het is van groot belang om achtergrondmetingen te doen, om zeker te kunnen zijn dat de gemeten indicatororganismen ook daadwerkelijk uit de MBI komen. Daarvoor kunnen, zoals in het VGO onderzoek (Maassen, Smit et al. 2016), controlemetingen bovenwinds plaatsvinden, op een locatie waar geen beïnvloeding van andere mogelijke bronnen plaatsvindt. Ook moet rekening worden gehouden met de windrichting die kan veranderen. De ideale weersomstandigheden om metingen te kunnen uitvoeren zijn zonder neerslag en bij een zwakke tot matige windsnelheid.

Vervolgens zou benedenwinds op meerdere afstanden gemeten kunnen worden. Met betrekking tot het transport van bioaerosolen kan naar de afstand en de tijd gekeken worden (Pillai and Ricke 2002). Bioaerosolen uit composteerbedrijven kunnen tot 500 m van de locatie gemeten worden, maar de meeste studies meten op kortere afstand waar hogere concentraties gemeten kunnen worden (Wéry 2014). In een Finse studie werden luchtmonsters genomen op 50 m en 150-200 m van de composteerbedrijven (Kaarakainen, Rintala et al. 2011). Ook Maassen, Smit et al. (2016) hebben benedenwinds op 25 m, 50 m, 100 m en 200

m gemeten. Concentraties van micro-organismen van MBIs in de buitenlucht hebben waarschijnlijk vergelijkbare afstandsprofielen met die van micro-organismen uit veehouderijen (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu 2016). Daarom kunnen deze afstanden ook van toepassing voor de luchtmetingen rond MBIs zijn, waarbij metingen op afstanden op 50, 150 en 250 m voldoende zouden zijn.

Luchtmetingen worden gebruikelijk op de hoogte gedaan waarop mensen ademen. Zo hebben Dungan (2010) bijvoorbeeld de luchtsamplers op 1.5 m boven de grond geplaatst. Kaarakainen, Rintala et al. (2011) hebben lucht op een hoogte tussen 1.5 m en 2.5 m gemeten. Luchtsamplers moeten hierbij in de windrichting georiënteerd worden (Ko, Simmons Iii et al. 2008). De sampler neemt met behulp van een vacuümpomp luchtmonsters met een gespecificeerde flow rate (Dungan 2010).

Vooraf bij gesloten systemen is het belangrijk om emissiemetingen van de luchtwassers uit te voeren. Gesloten systemen hebben alle een luchtwasser om de proceslucht te reinigen. De locatie van luchtwassers zal per bedrijf verschillen. Om alleen het gezondheidsrisico voor omwonenden te beoordelen is het meten na de luchtwasser voldoende. Om een goed beeld van het effect van luchtwassers op indicatororganismen te krijgen zou de luchtstroom net voor de luchtwasser en net na de luchtwasser gemeten worden.

### 4.3 Hoe kun je meten

Bij het meten van bioaerosolen worden deeltjes uit de lucht gevangen en geconcentreerd. Daarvoor zijn verschillende soorten meetapparatuur beschikbaar die lucht middels een pomp opzuigen, en filteren waardoor luchtdeeltjes met agentia op een filter verzameld worden. Van dit filter kan vervolgens DNA afgehaald worden en geanalyseerd. Met filtratie is alleen onderzoek mogelijk naar DNA, maar niet naar levende bacteriën. Er bestaat ook apparatuur die bacteriën in vloeistof verzamelt (impingers). Met deze methode kan wel onderzoek naar levende bacteriën worden uitgevoerd. Volgens Kozajda, Ježak et al. (2019) zijn de modernste en kosten-intensiefste meetmethodes niet altijd de beste. Het is van belang dat er voldoende opstellingen zijn om de metingen uit te voeren. Het is wel relevant om naast de meetmethode ook de juiste condities, zoals tijd, lucht volume en flow rate te kiezen.

In de VGO studie zijn luchtmetingen in stallen en in de buitenlucht uitgevoerd (Maassen, Smit et al. 2016). In deze studie werd fijnstof (PM<sub>10</sub>) uit de lucht met behulp van een pomp op filters opgevangen. Per meting op één locatie zijn tegelijk meerdere PM<sub>10</sub>-stofmonsters verzameld. Deze stofmonsters werden vervolgens gebruikt voor de bepaling van de PM<sub>10</sub>- en endotoxineconcentratie. Filters werden daarnaast opgewerkt voor analyse van DNA. Zoals in dit onderzoek kan uit de luchtmonsters DNA geanalyseerd worden met behulp van een zogenaamde Polymerase Chain Reaction (PCR) (Maassen, Smit et al. 2016).



Bij een gecentraliseerde MBI zou 24 uur continu meten voldoende moeten zijn, omdat deze continu aanstaat. In een studie van Kaarakainen, Rintala et al. (2011) werd 6 tot 7 dagen gemeten. In de VGO studie werd gedurende 5 uur gemeten (Maassen, Smit et al. 2016).

#### 4.4 Luchtmonsters analyseren

Voor de analyses van luchtmonsters zijn de meest gebruikelijke technieken DNA-technieken en kweek. De analysemethode hangt af van het indicatororganisme en zijn eigenschappen. Om verschillende soorten micro-organismen aan te tonen in lucht kan de laboratoriumtechniek PCR gebruikt worden. Met PCR toon je DNA aan van zowel dode als levende organismen en dat geeft dus een totaalbeeld, maar het is onbekend of de aangetoonde organismen een infectie zouden kunnen geven bij mensen als de lucht wordt ingeademd. PCR is een snelle methode, maar geeft geen kwantitatieve uitkomst (d.w.z. geen concentratie).

Met DNA-technieken zoals qPCR kunnen de totale hoeveelheden micro-organismen in de lucht gekwantificeerd worden. Volgens Kaarakainen, Rintala et al. (2011) is qPCR een veelbelovende methode om microbiële emissies naar de lucht te kwantificeren. In een studie van Burch, Spencer et al. (2018) bleken de schattingen van microbiële reductie door qPCR veel lager te zijn dan de schattingen door kweek. Dit zou verklaard kunnen worden doordat qPCR geen onderscheid maakt tussen levende en dode cellen. Burch, Spencer et al. (2018) argumenteren dat de kans klein is om vrij DNA van dode micro-organismen uit anaerobe digestie voor qPCR te kunnen amplificeren. Zij redeneren dat anaerobe digestie DNA afbreekt.

Om microbiële concentraties in lucht vast te stellen, kan naast PCR ook kweek toegepast worden. Door een kweekmethode toe te passen worden dus de aantallen levende micro-organismen gedetecteerd (Dungan 2010). Kweekbare bacteriën kunnen een bruikbare indicator zijn voor de microbiologische luchtkwaliteit (Ko, Simmons Iii et al. 2008). Dit zijn indicatorbacteriën zoals de al genoemde *E. coli*, *Staphylococcus* of *Clostridium*. Dit geeft dus alleen gedeeltelijk aan wat er in de lucht zit en kan de diversiteit van pathogenen in bioaerosolen onderschatten (Wéry 2014). Daarnaast noemen Burch, Spencer et al. (2018) de beperking van levend maar niet-kweekbare cellen (Viable but nonculturable, VBNC), waardoor kweek het aantal infectieuze micro-organismen kan onderschatten. Verder is een mogelijke beperking dat het aantal kweekbare micro-organismen veel sneller afneemt dan het aantal levende micro-organismen. Daardoor zou het reduceren van micro-organismen tijdens een mestbewerkingstechniek zoals biovergisting overschat kunnen worden, als deze schattingen door kweek vastgesteld worden (Burch, Spencer et al. 2018). Somatische colifagen zijn ook makkelijk te kweken op een laag bacteriën (Hoeksma, Aarnink et al. 2015). Het kweken van virussen is echter moeilijk. Voor internationaal gestandaardiseerde methoden kunnen ISO richtlijnen gebruikt worden (International Organization for Standardization 2017).



## 5 Conclusie en aanbevelingen

Omdat nog onbekend is of, en in welke mate, emissies van ziekteverwekkers uit MBIs naar de buitenlucht plaatsvinden en of dit een risico voor omwonenden vormt, bevelen wij aan om een monitoringsprogramma op te zetten. Op basis van deze literatuurstudie is een voorstel gedaan waarbij de mogelijkheden en beperkingen van diverse indicatororganismen, meetapparatuur en meetmethodes voor bronemissiebepaling en voor monitoring van lucht rond MBIs is omschreven. In *tabel 8* worden geschikte indicatororganismen voor emissies uit verschillende MBIs samengevat. Om een goed beeld van emissies uit MBIs te krijgen werden metingen van biologische agentia met verschillende eigenschappen (gramkleuringen en zuurstofbehoefte) voorgesteld op basis van de beschikbare literatuur en de eisen die aan indicatoren worden gesteld.

Als geschikte indicator voor Gram-positieve bacteriën zijn *Clostridium* en enterokokken geïdentificeerd. *Clostridium* wordt voorgesteld omdat deze bacterie in hoge concentraties voorkomt maar ook in lage concentraties gemeten kan worden. En ook omdat deze zeer resistent is tegen hitte en uitdroging door de beschermende sporen die *Clostridium* vormt. Zo overleeft *Clostridium* ook extreme temperatuurbehandelingen. *Clostridium* is anaeroob en overleeft onder zuurstofloze condities. Daarentegen kunnen enterokokken onder zowel zuurstofloze als zuurstofrijke condities overleven. Verder zijn deze micro-organismen net zo resistent als *Clostridium*. Enterokokken hebben ook vergelijkbare eigenschappen als stafylokokken. Enterokokken werden in de literatuur met betrekking tot overleving in MBIs echter vaker genoemd en blijken mestbewerking iets beter te overleven. Daarentegen werden in de buitenlucht rond stallen hoge aantallen stafylokokken/MRSA aangetoond (Kennissplatform Veehouderij en humane gezondheid 2019). Na mestbewerkingsprocessen werden Stafylokokken echter in veel lagere aantallen aangetroffen (Hoeksma, Rutjes et al. 2016), maar kunnen wel goed in lucht overleven (van Leuken, Hoeksma et al. 2017). Er zijn nog weinig studies over de overleving en emissies na mestbewerkingsprocessen van stafylokokken. Het is echter wel bekend dat stafylokokken in lucht rond afvalwaterzuiveringsinstallaties in hoge aantallen voorkomen en ook in droge milieus lang kunnen overleven (Kozajda, Ježak et al. 2019). Omdat stafylokokken wel in lage concentraties en ook in de buitenlucht overleven, moet overwogen worden om naast enterokokken ook stafylokokken als indicator te gebruiken.

Als indicator voor Gram-negatieve bacteriën uit mest kunnen *E. coli*, endotoxinen en *Campylobacter* gebruikt worden. *E. coli* is een klassieke en betrouwbare indicator voor fecale verontreiniging en is makkelijk te meten. *E. coli* blijkt ook zure milieus te overleven. *E. coli* overleeft echter niet bij te hoge temperaturen en zou een betere indicator voor bewerking met mesofiele temperaturen zijn. *Campylobacter* blijkt ook na mestbewerkingsprocessen nog in hoge aantallen aanwezig te zijn en kan in lage concentraties gemeten worden. Wel is *Campylobacter* zuurstof gevoelig en heeft lage zuurstofconcentraties nodig om te groeien. Dit

maakt het ook lastiger om levende *Campylobacter* te meten. Endotoxinen zijn bestanddelen van dode Gram-negatieve bacteriën en geven zo alleen een maat voor emissies, zonder aan te tonen of er levende Gram-negatieve bacteriën aanwezig zijn in het monster. Naast bacteriën bevat mest ook virussen. Luchtmetingen van virussen zijn technisch uitdagend. Om toch een beeld van virusemissies te krijgen, moet uitgetest worden of somatische colifagen geschikt zijn. Somatische colifagen zijn ook vaak gebruikte indicatoren voor fecale contaminatie. Deze fagen komen in hoge aantallen voor in mest omdat zij *E. coli* bacteriën infecteren. Verder hebben somatische colifagen vergelijkbare karakteristieken met HEV en kunnen zo als indicator voor virussen ingezet worden.

Omdat een indicator makkelijk te isoleren, te identificeren en te kwantificeren moet zijn en de tests betaalbaar moeten blijven worden de klassieke meet- en analysemethodes aanbevolen. Dit zijn luchtmetingen op filters en vervolgens PCR-technieken en kweek. Zoals eerder beschreven kan PCR de eerste stap zijn om een totaal beeld van de emissies te krijgen. Daarna kan kweek worden toegepast om verder vast te stellen welke micro-organismen in de buitenlucht uit MBIs konden overleven. Beide methoden hebben voor- en nadelen. Daarom is een combinatie van eerst PCR en dan kweek een goede methode om potentieel ziekteverwekkende emissies uit MBIs te meten.

Vervolgstappen omvatten het testen van de voorgestelde indicatororganismen op de geschiktheid voor de bepaling van de uitstoot van potentieel risicovolle micro-organismen uit MBIs. Na veldmetingen van de geïdentificeerde indicatororganismen kan de selectie van indicatoren, apparatuur en methoden verder geoptimaliseerd worden en kosten-effectiever. Vervolgens kunnen monitoringsplannen ontworpen worden voor luchtmetingen op verschillende afstanden van de MBIs. Deze meetgegevens kunnen luchtverspreidingsmodellering en risicoschatting voeden om de blootstelling en respectievelijk mogelijke gezondheidsrisico's voor omwonenden te kunnen schatten.

## 6 Verklarende woordenlijst

Aeroob	Milieu waar zuurstof aanwezig is, of wordt toegevoegd, waarin organismen die zuurstof nodig hebben kunnen gedijen, bijvoorbeeld aerobe bacteriën zoals <i>Legionella</i> spp.
Aerosolen	Aerosolen zijn zeer kleine vaste of vloeibare deeltjes die zweven in de lucht.
Anaeroob	Milieu waar geen zuurstof aanwezig is of wordt toegevoegd en waarin organismen die geen zuurstof gebruiken om te leven kunnen gedijen, bijvoorbeeld anaerobe bacteriën zoals verschillende <i>Clostridium</i> spp.
Anaerobe Digestie	Mestvergisting is een anaeroob biologisch proces waarbij een deel van de organische stof in de mest wordt omgezet in biogas dat voornamelijk bestaat uit methaan (CH <sub>4</sub> ) en kooldioxide (CO <sub>2</sub> ).
Biologische agentia	Een micro-organisme die een infectie kan veroorzaken.
Composteren	Een aeroob proces, waarbij een uitgangproduct door micro-organismen afgebroken wordt tot humus.
Co-vergisting	In anaerobe digestie wordt naast mest een co-product (maximaal 50% andere stoffen om de gasopbrengst te vergroten) omgezet in biogas en een digestaat.
Emissie	De uitstoot van (schadelijke) stoffen of fijnstof naar de lucht
Endotoxine	Schadelijke bestanddelen van dode Gram-negatieve bacteriën.
Fijnstof	Stofdeeltjes kleiner dan 10 micrometer (PM <sub>10</sub> ).
Hygiëniseren	Ook pasteurisatie genoemd. Een hittebehandeling van minimaal 60 minuten bij minimaal 70°C, waardoor ziekteverwekkers in voldoende mate afgedood worden.
Indicator	Een stof of micro-organisme die de aanwezigheid van fecale contaminatie bewijst.
Kweekmethode	Werkwijze om mogelijk aanwezige bacteriën in een (water)monster onder gunstige en gecontroleerde omstandigheden te laten uitgroeien op een voedingsbodem. Eventueel aanwezige bacteriën groeien uit tot zichtbare koloniën en kunnen zo worden geteld.
Log reductie (logaritmische vermindering)	Verminderen van het aantal micro-organismen met een factor 10.

Mesofiel	Temperatuur bij 35 - 40°C (Mesofiele micro-organismen kunnen het best tussen 35 - 40°C gedijen).
Mestbewerking	Het behandelen van dierlijke mest zonder het product wezenlijk te veranderen.
Mestverwerking	Het toepassen van technieken, die de aard en de hoedanigheid van de mest dusdanig veranderen dat het eindproduct geëxporteerd kan worden. Bijvoorbeeld door hygiëniseren.
Micro-aerofiel	Campylobacter is een micro-aerofiele bacterie, die een lage zuurstofconcentratie van 3 - 15 % nodig heeft.
Micro-organisme	Een organisme van (sub)microscopische grootte.
Monitoring	Het (continu) controleren van (beheers)maatregelen en van het behoud van gewenste waarden. Dit kan bijvoorbeeld door het controleren van de aanwezigheid van micro-organismen in de lucht door het nemen van luchtmonsters.
Monovergisting	Mestvergisting waarbij alleen drijfmest als grondstof gebruikt wordt.
Pasteurisatie	Een hittebehandeling van minimaal 60 minuten bij minimaal 70°C.
Pathogenen	Verwekkers van ziekte. Voorbeelden zijn virussen, bacteriën en schimmels.
(q)PCR	(Quantitative) Polymerase Chain Reaction. Laboratoriumtechniek om stukjes DNA te vermeerderen zodat het mogelijk is specifieke DNA-delen aan te tonen.
Thermofiel	Temperatuur bij 50 - 55°C (Thermofiele micro-organismen kunnen het best tussen 50 - 55°C gedijen).

## 7 Annex

*Ziekteverwekkers en indicatoren in bewerkte mest*

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie (MIN-MAX)	Gemiddelde Concentratie	Eenheid
<b>Anaerobe digestie</b>							
<i>Bacillus</i>	Bagge et al. (2005)	Rund, Varken	100 g	29/29 (100%)		6.3 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<i>Campylobacter</i>	Inglis et al. (2010)	Rund	5 g		> 10 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<i>Campylobacter</i>	Qi et al. (2019)	Rund	3 g		5.0 x 10 <sup>6</sup>		Kve/g
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	24/118 (19%)	9.1 x 10 <sup>2</sup> - 2.7 x 10 <sup>4</sup>	3.6 x 10 <sup>3</sup>	Kopieën/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Bagge et al. (2005)	Rund, Varken	100 g	29/29 (100%)		2.5 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	23/119 (19%)	2.4 x 10 <sup>3</sup> - 3.8 x 10 <sup>5</sup>	2.9 x 10 <sup>4</sup>	Kopieën/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.1 - 52 x 10 <sup>3</sup>	8 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	0/35 (0%)	not detected		
<i>E. coli</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund				3.6 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.4 - 10 x 10 <sup>2</sup>	5 x 10 <sup>2</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Qi et al. (2019)	Rund	3 g	not detected			
ESBL - <i>E. coli</i>	Schauss et al. (2015)	Rund, Varken	10 g		10 <sup>1</sup> - 10 <sup>3</sup>		Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.1 - 6 x 10 <sup>3</sup>	4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
(Vancomycin-resistente) <i>Enterococcus</i>	Glaeser et al. (2016)	Rund, Varken	10 g	1/2 (50%)			
<i>Giardia lamblia</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	0/35 (0%)	not detected		
<i>Salmonella</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	2/77 (3%)	3.1 x 10 <sup>3</sup> - 1.8 x 10 <sup>4</sup>	7.6 x 10 <sup>3</sup>	Kopieën/g
<i>Salmonella</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund				7.4 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Salmonella</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			ND - 0.04	6 x 10 <sup>-3</sup>	Kve/g
<b>Composteren</b>							
<i>E. coli</i>	Berry et al. (2013)	Rund	10 g		2.0 - 5.3	2.2	Kve/g
<i>E. coli</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		5.0 x 10 <sup>4</sup> - 1.5 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<i>Campylobacter</i>	Manyi-Loh et al. (2014)	Rund	1 g			1.0 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<i>Listeria</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		6.3 - 3.1 x 10 <sup>2</sup>		Kve/g

Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie (MIN-MAX)	Gemiddelde Concentratie	Eenheid
<b>Drogen</b>							
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Graves et al. (2009)	Rund	1 g	80/142 (56 %)			
<i>Enterococcus mundtii</i>	Graves et al. (2009)	Rund	1 g	37/142 (26%)			
<b>Hygienisatie</b>							
<i>Enterococcus</i>	Scheinemann et al. (2015)	Rund			10 <sup>3</sup> - 10 <sup>4</sup>		Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Bagge et al. (2005)	Rund, Varken	100 g	1/24 (4%)		3.1 x 10 <sup>5</sup>	Kve/g
<b>Nitrificatie / Denitrificatie</b>							
<i>Enterococcus</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				42.7	Kve/ml
<i>Salmonella</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				34.7	Kve/ml
<b>Omgekeerde Osmose: concentraat</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					4.9 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					2.6 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					1.1 x 10 <sup>4</sup>	Pve/g
MRSA	Hoeksma et al. (2015)					1.3	Mwa/g
<i>Salmonella</i>	Hoeksma et al. (2015)					3.7	Mwa/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					7.1 x 10 <sup>4</sup>	Pve/g
<b>Omgekeerde Osmose: permeaat</b>							
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.3	Kve/g
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					1.4	Pve/g
MRSA	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Mwa/g
<i>Salmonella</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Mwa/g
<i>Somatische colifagen</i>	Hoeksma et al. (2015)					1.0	Pve/g
<b>Opslag</b>							
<i>Clostridium perfringens</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.5 - 4 x 10 <sup>3</sup>	1 x 10 <sup>3</sup>	Kve/g
<i>E. coli</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		501 - 1.9 x 10 <sup>7</sup>		Kve/g
<i>E. coli</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.2 - 10 x 10 <sup>4</sup>	5 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			0.1 - 14 x 10 <sup>4</sup>	4 x 10 <sup>4</sup>	Kve/g
<i>Listeria</i>	Biswas et al. (2017)	Rund	150 g		19.9 - 630		Kve/g



Micro-organisme	Referentie	Dier	Monster-volume	Prevalentie (%)	Concentratie (MIN-MAX)	Gemiddelde Concentratie	Eenheid
<i>Salmonella</i>	Martinez et al. (2009)	Varken			ND - 11	2	Kve/g
<b>Scheiden: dunne fractie</b>							
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	13/134 (10%)	$2.5 \times 10^3 - 1.0 \times 10^6$	$3.5 \times 10^4$	Kopieën/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	9/130 (7%)	$2.5 \times 10^3 - 7.8 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	Kopieën/g
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					$8.4 \times 10^3$	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					$1.4 \times 10^3$	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				$6 \times 10^4$	Kve/ml
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					$3.8 \times 10^3$	Kve/g
<i>Salmonella</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	0/144 (0%)	not detected		
<i>Salmonella</i>	Hoeksma et al. (2015)					7.4	Mwa/g
<i>Salmonella</i>	Vanotti et al. (2004)	Varken				34.7	Kve/ml
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					$3.4 \times 10^4$	Pve/g
<b>Scheiden: vaste fractie</b>							
<i>Campylobacter jejuni</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	15/125 (12%)	$5.5 \times 10^1 - 5.2 \times 10^3$	$4.0 \times 10^2$	Kopieën/g
<i>Clostridium perfringens</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	17/115 (15%)	$1.6 \times 10^2 - 8.3 \times 10^3$	$1.3 \times 10^3$	Kopieën/g
<i>E. coli</i>	Hoeksma et al. (2015)					$4.8 \times 10^4$	Kve/g
<i>Enterococcus</i>	Hoeksma et al. (2015)					$4.3 \times 10^4$	Kve/g
Hepatitis E virus	Hoeksma et al. (2015)					$2.0 \times 10^4$	Pve/g
MRSA	Hoeksma et al. (2015)					2.2	Mwa/g
<i>Salmonella</i>	Burch et al. (2018)	Rund	50 mg	1/125 (1%)		7.1	Kopieën/g
<i>Salmonella</i>	Hoeksma et al. (2015)					4.6	Kve/g
Somatische colifagen	Hoeksma et al. (2015)					$1.7 \times 10^5$	Pve/g

Kve= Kolonievormende eenheden; Mwa = Meest waarschijnlijke aantal; Pve = Plaque vormende eenheden



## 8 Referenties

Aarnink, A. J. A., et al. (2011). "Scrubber capabilities to remove airborne microorganisms and other aerial pollutants from the exhaust air of animal houses." *Transactions of the ASABE / American Society of Agricultural and Biological Engineers* **54**(5): 1921-1930.

Bagge, E., et al. (2005). "The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants." *Water Res* **39**(20): 4879-4886.

Barbier, E., et al. (2016). "First molecular detection of *Mycobacterium bovis* in environmental samples from a French region with endemic bovine tuberculosis." *Journal of Applied Microbiology* **120**(5): 1193-1207.

Bartels, A. A., et al. (2013). Kunnen luchtwassers legionella verspreiden naar de omgeving? Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM): 69.

Berry, E. D., et al. (2013). "Fate of naturally occurring *Escherichia coli* O157:H7 and other zoonotic pathogens during minimally managed bovine feedlot manure composting processes." *J Food Prot* **76**(8): 1308-1321.

Biswas, S., et al. (2018). "Effect of Dairy Manure Storage Conditions on the Survival of *E. coli* O157:H7 and *Listeria*." *J Environ Qual* **47**(1): 185-189.

Blaak, H., et al. (2019). De invloed van landbouwactiviteiten op bijzonder resistente bacteriën in oppervlaktewater: ESBL en AmpC-producerende *E. coli*. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM).

Bouwknecht, M., et al. (2009). Hepatitis E virus risk profile. Identifying potential animal, food, and water sources for human infections. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.

Budu-Amoako, E., et al. (2012). "Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* on beef farms and water sources within the vicinity of the farms on Prince Edward Island, Canada." *Veterinary Parasitology* **184**(1): 1-9.

Burch, T. R., et al. (2018). "Fate of Manure-Borne Pathogens during Anaerobic Digestion and Solids Separation." *J Environ Qual* **47**(1): 336-344.

Burch, T. R., et al. (2017). "Quantitative Microbial Risk Assessment for Spray Irrigation of Dairy Manure Based on an Empirical Fate and Transport Model." *Environ Health Perspect* **125**(8): 087009.

Carpenter, G. A. (1986). "Dust in livestock buildings—Review of some aspects." *Journal of Agricultural Engineering Research* **33**(4): 227-241.

Carpenter, G. A. and J. T. Fryer (1990). "Air filtration in a piggery: Filter design and dust mass balance." *Journal of Agricultural Engineering Research* **46**: 171-186.

CBS (2020). "Dierlijke mest; productie en mineralenuitscheiding; bedrijfstype, regio." from <https://www.cbs.nl/nl-nl/cijfers/detail/83983NED?q=dierlijke%20mest>.

Centers for Disease Control and Prevention (2018). "Zoonotic Diseases." *One Health*. from <https://www.cdc.gov/onehealth/basics/zoonotic-diseases.html>.

Courault, D., et al. (2017). "Assessment and risk modeling of airborne enteric viruses emitted from wastewater reused for irrigation." *Science of The Total Environment* **592**: 512-526.

Cummings, K. J., et al. (2010). "The effect of clinical outbreaks of salmonellosis on the prevalence of fecal salmonella shedding among dairy cattle in New York." *Foodborne Pathogens and Disease* **7**(7): 815-823.

de Buisonjé, F., et al. (2013). Inventarisatie emissies en geluidsoverlast van mestbewerkingsinstallaties en eventuele maatregelen Lelystad, Wageningen UR Livestock Research.

de Roda Husman, A. M., et al. (2006). De microbiologische kwaliteit van het ingenomen en afgeleverde water van Waterwinningbedrijf Brabantse Biesbosch in 2001. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, : 60.

De Roda Husman, A. M. and F. M. Schets (2010). Climate change and recreational waterrelated infectious diseases. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM)

Desneux, J., et al. (2016). "Fate of viable but non-culturable listeria monocytogenes in pig manure microcosms." *Frontiers in Microbiology* **7**(MAR).

Dollmann, S. K. (2018). Manure - a valuable nutrient source or a risk to public health? Systematic literature review and overview of the governance of manure and public health in the Netherlands, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) en Universiteit Utrecht 73.

Dungan, R. S. (2010). "BOARD-INVITED REVIEW: fate and transport of bioaerosols associated with livestock operations and manures." *Journal of animal science* **88**(11): 3693-3706.

Ferguson, C., et al. (2003). "Fate and Transport of Surface Water Pathogens in Watersheds." *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **33**(3): 299-361.

Frey, S. K., et al. (2015). "Quantitative *Campylobacter* spp., antibiotic resistance genes, and veterinary antibiotics in surface and ground water following manure application: Influence of tile drainage control." *Science of the Total Environment* **532**: 138-153.

Gao, M., et al. (2018). "The abundance and diversity of antibiotic resistance genes in the atmospheric environment of composting plants." *Environment International* **116**: 229-238.

García, M., et al. (2014). "Detection of hepatitis E virus (HEV) through the different stages of pig manure composting plants." *Microbial Biotechnology* **7**(1): 26-31.

Gentry-Shields, J., et al. (2015). "Hepatitis E virus and coliphages in waters proximal to swine concentrated animal feeding operations." *Science of The Total Environment* **505**: 487-493.

Givens, C. E., et al. (2016). "Detection of hepatitis E virus and other livestock-related pathogens in Iowa streams." *Science of the Total Environment* **566-567**: 1042-1051.

Glaeser, S. P., et al. (2016). "Cultivation of vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant staphylococci from input and output samples of German biogas plants." *FEMS Microbiol Ecol* **92**(3).

Graves, A., et al. (2009). "Characterization of enterococci populations in livestock manure using BIOLOG." *Microbiological Research* **164**(3): 260-266.

Grit, G. H., et al. (2012). "Giardia duodenalis cyst survival in cattle slurry." *Veterinary Parasitology* **184**(2-4): 330-334.

Hagenaars, T., et al. (2017). Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (aanvullende studies). Analyse van gezondheidseffecten, risicofactoren en uitstoot van bio-aerosolen Bilthoven, RIVM: 68.

Hagens, W. I., et al. (2011). Gezondheidsaspecten van het wonen nabij composteerbedrijven. Een literatuurstudie Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM): 73.

Heezen, P. A. M., et al. (2014). Feitenrelaas rond de aspecten 'Gezondheid en Veiligheid' van biovergisting. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM): 42.

Heijnen, L. (2011). Virusverwijdering door drinkwaterzuiveringsprocessen: de waarde van somatische fagen, F-specifieke fagen en adenovirussen. Nieuwegijn, KWR. Watercycle Research Institute

Hoar, B. R., et al. (2009). "Giardia duodenalis in feedlot cattle from the central and western United States." *BMC Veterinary Research* **5**: 37.

Hoeksma, P., et al. (2015). Effect van processtappen op overleving van micro-organismen bij mestverwerking. Wageningen, Wageningen UR Livestock Research.

Hoeksma, P., et al. (2016). "Overleving van pathogenen bij mestverwerking." *H2O-Online*.

Huijbers, P. M., et al. (2015). "Role of the Environment in the Transmission of Antimicrobial Resistance to Humans: A Review." *Environ Sci Technol* **49**(20): 11993-12004.

Inglis, G. D., et al. (2010). "Prolonged Survival of *Campylobacter* Species in Bovine Manure Compost." *Applied and environmental microbiology* **76**(4): 1110-1119.

International Organization for Standardization (2017). ISO 10272-2:2017. *Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 2: Colony-count technique*: 19.

Jenkins, D. J., et al. (2014). "Echinococcus granulosus and other intestinal helminths: current status of prevalence and management in rural dogs of eastern Australia." *Australian Veterinary Journal* **92**(8): 292-298.

Karakainen, P., et al. (2011). "Concentrations and Diversity of Microbes from Four Local Bioaerosol Emission Sources in Finland." *Journal of the Air & Waste Management Association* **61**(12): 1382-1392.

Kang, W., et al. (2014). "Effect of temperature on bacterial emissions in composting of swine manure." *Waste Management* **34**(6): 1006-1011.

Kennisplatform Veehouderij en humane gezondheid (2019). Kennisbericht Mest en mestbewerking 46.

Ko, G., et al. (2008). "Investigation of Bioaerosols Released from Swine Farms using Conventional and Alternative Waste Treatment and Management Technologies." *Environmental Science & Technology* **42**(23): 8849-8857.

Ko, G., et al. (2010). "Endotoxin Levels at Swine Farms Using Different Waste Treatment and Management Technologies." *Environmental Science & Technology* **44**(9): 3442-3448.

Kozajda, A., et al. (2019). "Airborne *Staphylococcus aureus* in different environments-a review." *Environmental science and pollution research international* **26**(34): 34741-34753.

Krog, J. S., et al. (2017). "Leaching of viruses and other microorganisms naturally occurring in pig slurry to tile drains on a well-structured loamy field in Denmark." *Hydrogeology Journal* **25**(4): 1045-1062.

- Krueger, N. A., et al. (2008). "Prevalence and concentration of *Campylobacter* in rumen contents and feces in pasture and feedlot-fed cattle." *Foodborne Pathogens and Disease* **5**(5): 571-577.
- Leblanc Maridor, M., et al. (2008). "Experimental infection of specific pathogen-free pigs with *Campylobacter*: Excretion in faeces and transmission to non-inoculated pigs." *Veterinary Microbiology* **131**(3-4): 309-317.
- Li, Z., et al. (2019). "Optimization of a wet scrubber with electrolyzed water spray—Part II: Airborne culturable bacteria removal." *Journal of the Air & Waste Management Association* **69**(5): 603-610.
- Maassen, K., et al. (2016). Veehouderij en gezondheid omwonenden Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM): 136.
- Mannion, C., et al. (2007). "Seasonal effects on the survival characteristics of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Derby in pig slurry during storage." *Journal of Applied Microbiology* **103**(5): 1386-1392.
- Manyi-Loh, C. E., et al. (2016). "An Overview of the Control of Bacterial Pathogens in Cattle Manure." *International journal of environmental research and public health* **13**(9).
- Manyi-Loh, C. E., et al. (2014). "Inactivation of selected bacterial pathogens in dairy cattle manure by mesophilic anaerobic digestion (balloon type digester)." *International journal of environmental research and public health* **11**(7): 7184-7194.
- Martinez, J., et al. (2009). "Livestock waste treatment systems for environmental quality, food safety, and sustainability." *Bioresource Technology* **100**(22): 5527-5536.
- Ministerie van Landbouw Natuur en Voedselkwaliteit (2020). Contouren toekomstig mestbeleid. D. P. A. e. Voedselkwaiteit. Den Haag, Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit.
- Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (2020). "Mestverwerking en hygiëniseratie." from <https://www.nvwa.nl/onderwerpen/mest/mestverwerking-en-hygienisatie>.
- Nijdam, R., et al. (2020). GGD- richtlijn medische milieukunde. Veehouderij en gezondheid. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, : 106.
- Oates, S. C., et al. (2012). "Prevalence, environmental loading, and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from domestic and wild animals along the central California coast." *Applied and Environmental Microbiology* **78**(24): 8762-8772.

Pillai, S. D. and S. C. Ricke (2002). "Bioaerosols from municipal and animal wastes: background and contemporary issues." *Can J Microbiol* **48**(8): 681-696.

Pires, A. F. A., et al. (2013). "Enumeration of salmonella in feces of naturally infected pigs." *Foodborne Pathogens and Disease* **10**(11): 933-937.

Provincie Noord-Brabant (2018). Beleidsregel van Gedeputeerde Staten van de provincie Noord-Brabant houdende regels omtrent volksgezondheid en mestbewerkingsinstallaties (Beleidsregel volksgezondheid en mestbewerkingsinstallaties Noord-Brabant).

Provincie Noord-Brabant (2018). Beleidsregel volksgezondheid en mestbewerkingsinstallaties Noord-Brabant. 's-Hertogenbosch.

Provincie Noord-Brabant (2019). Mest in Brabant. s'Hertogenbosch, Provincie Noord-Brabant,.

Qi, G., et al. (2019). "The survival of pathogenic bacteria and plant growth promoting bacteria during mesophilic anaerobic digestion in full-scale biogas plants." *Anim Sci J* **90**(2): 297-303.

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (2016). Beantwoording gezondheidsvragen versie 3 van de Provincie Noord-Brabant over Mestverwerker. RIVM and Wageningen Livestock Research. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM).

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (2020). "Antibioticaresistentie." from <https://www.rivm.nl/antibioticaresistentie>.

Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (2020). "Zoönosen." from <https://www.rivm.nl/zo-nosen>.

Rutjes, S. A., et al. (2007). "Increased hepatitis E virus prevalence on Dutch pig farms from 33 to 55% by using appropriate internal quality controls for RT-PCR." *J Virol Methods* **143**(1): 112-116.

Schauss, T., et al. (2015). "Improved detection of extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in input and output samples of German biogas plants by a selective pre-enrichment procedure." *PloS one* **10**(3): e0119791-e0119791.

Scheinemann, H. A., et al. (2015). "Hygienisation and nutrient conservation of sewage sludge or cattle manure by lactic acid fermentation." *PloS one* **10**(3): e0118230-e0118230.

Schmitt, H., et al. (2019). Antibioticaresistente bacteriën, resistentiegenen en antibioticaresiduen in mest. Bilthoven, Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM): 42.

Schmitt, H., et al. (2017). Bronnen van antibioticaresistentie in het milieu en mogelijke maatregelen. Bilthoven, RIVM: 114.



- Shepherd Jr, M. W., et al. (2010). "Effect of heat-shock treatment on the survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* Typhimurium in dairy manure co-composted with vegetable wastes under field conditions." *Bioresource Technology* **101**(14): 5407-5413.
- Thiel, N., et al. (2020). "Airborne bacterial emission fluxes from manure-fertilized agricultural soil." *Microbial Biotechnology* **13**(5): 1631-1647.
- Traversi, D., et al. (2015). "Green job bio-aerosol exposure during anaerobic digestion for biomass energetic valorisation." *Environmental Research* **138**: 425-431.
- Van den Hout, K. and L. C. Vermeulen (2019). Risicoperceptie en mestbewerking. Een kwalitatieve verkenning van beleving bij omwonenden.
- van Leuken, J., et al. (2017). Exploration of the microbiological risks of manure. Bilthoven, RIVM: 58.
- Vanotti, M. B., et al. (2005). "Removal of pathogen and indicator microorganisms from liquid swine manure in multi-step biological and chemical treatment." *Bioresource Technology* **96**(2): 209-214.
- Vermeulen, L. C., et al. (2017). "Global *Cryptosporidium* Loads from Livestock Manure." *Environ Sci Technol* **51**(15): 8663-8671.
- Vivant, A. L., et al. (2017). "Transcriptomic analysis of the adaptation of *Listeria monocytogenes* to lagoon and soil matrices associated with a piggery environment: Comparison of expression profiles." *Frontiers in Microbiology* **8**(SEP).
- von Salviati, C., et al. (2015). "Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas." *Veterinary Microbiology* **175**(1): 77-84.
- Wang, C., et al. (2019). "Inactivation of airborne bacteria using different UV sources: Performance modeling, energy utilization, and endotoxin degradation." *Sci Total Environ* **655**: 787-795.
- Wéry, N. (2014). "Bioaerosols from composting facilities--a review." *Frontiers in cellular and infection microbiology* **4**: 42-42.
- Woltjer, G. and M.-J. Smits (2019). De betekenis van mestverwerking in een circulaire economie. Wageningen, Wageningen Economic Research.
- World Health Organization (2006). Guidelines for safe recreational water environments. Geneva, World Health Organization, . **2**: 146.
- Youngquist, C. P., et al. (2016). "Fate of Antibiotics and Antibiotic Resistance during Digestion and Composting: A Review." *J Environ Qual* **45**(2): 537-545.

Zhao, Y., et al. (2011). "Effectiveness of Multi-Stage Scrubbers in Reducing Emissions of Air Pollutants from Pig Houses." *Transactions of the ASABE* **54**(1): 285-293.

Zwettler, D., et al. (2012). "First detection of hepatitis E virus in Austrian pigs by RT-qPCR." *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift* **125**(7-8): 281-289.



**RIVM**

*De zorg voor morgen begint vandaag*