

## **Veterinaire antibiotica in de bodem en het grondwater**

Mogelijke effecten van  
antibiotica op het terrestrische  
milieu in Nederland

**Opdrachtgever**

SKB  
Groningenweg 10  
2803 PV Gouda  
Postbus 420  
2800 AK Gouda

**Correspondentieadres**

Geofox-Lexmond bv  
Jules Verneweg 21-15  
Postbus 2205  
5001 CE Tilburg

**Status**

Concept V01

**Datum**

27 november 2008

**Projectnummer**

20080612

**Auteur**

De heer ing. R.D. Liefers

Paraaf:

**Controle / vrijgave**

De heer drs. J.A. van Schijndel

Paraaf:

## Samenvatting

Veterinaire antibiotica in de bodem en het grondwater staan internationaal in de belangstelling. In Nederland is nog weinig onderzoek uitgevoerd naar het voorkomen, de effecten en de risico's van antibiotica in de bodem en het grondwater. Vandaar dat dit literatuuronderzoek gaat over datgene wat nationaal en internationaal bekend is over het gedrag, de effecten en de risico's van dierlijke geneesmiddelen in de bodem en het grondwater. Hierbij wordt vooral gekeken naar het gebruik van veterinaire antibiotica binnen de intensieve veehouderij, omdat hier de meeste antibiotica worden gebruikt. Veterinaire antibiotica kunnen onder andere via de intensieve veehouderij in het milieu terechtkomen. In het milieu (specifiek de bodem en het grondwater), kunnen ze in potentie schade aanrichten. Er zijn veel factoren die de eigenschappen (adsorptievermogen, de halfwaardetijd, metabolisme, opname en de mobiliteit) van de antibiotica in de bodem en het grondwater kunnen beïnvloeden. Allereerst is er het wettelijk kader. In de Europese en Nederlandse wet- en regelgeving kan onderscheid worden gemaakt in de productregelgeving en de kwaliteitsregelgeving. De productregelgeving geeft regels weer over onder andere de introductie van een diergeneesmiddel op de markt. Hierbij moet onder andere een milieuonderzoek plaatsvinden om te onderzoeken of een antibioticum geen negatieve effecten heeft op of in het milieu. Onduidelijk is of resistentie in dergelijke milieuonderzoeken wordt meegenomen. Wanneer een antibioticum negatieve effecten heeft, wordt geen vergunning afgegeven. Naast de productregelgeving is er de kwaliteitsregelgeving. In de kwaliteitsregelgeving kunnen normen worden opgesteld in verband met het lozen van antibiotica. Er zijn echter geen normen opgesteld voor antibiotica. Wel geldt er een zorgplichtbepaling, waarin aan wordt gegeven dat de introductie van verontreinigingen tegen moet worden gegaan.

Binnen de intensieve veehouderij worden veel soorten antibiotica gebruikt. Daarnaast zijn er de laatste jaren vooral buitenlandse, wetenschappelijke studies verschenen over veterinaire antibiotica in het milieu. Vandaar dat in dit onderzoek een afbakening is gemaakt door te kijken naar de oxytetracyclinen en de sulfamethoxazolen. Deze afbakening is gemaakt op basis van de hoeveelheden, de globale eigenschappen en de toepassing. Er zijn diverse (abiotische en biotische) factoren die het gedrag van antibiotica in de bodem en het grondwater beïnvloeden. Hierbij gaat het om de hoeveelheid mest (dus ook antibiotica), de pH, de temperatuur, de hoeveelheid water (hydrolyse), de hoeveelheid bacteriën, fractie organische koolstof, fractie zand, fractie klei, fractie silt, de hoeveelheid mineralen, de mate van fytolyse en de zuurstofhoeveelheid. Over het algemeen kan aan worden gegeven dat sulfamethoxazole mobiel is en daarom snel naar het grondwater zal verspreiden. Oxytetracycline daarentegen adsorbeert sterk aan bodemdeeltjes. De halfwaardetijden kunnen verschillen van enkele dagen tot een jaar. Over metabolisme zijn weinig gegevens gevonden.

Op basis van de mestgegevens (de stikstofbelasting) van CBS, is bekeken waar ogenschijnlijk de meeste veterinaire antibiotica voorkomen. Hierbij is gekeken naar de drie belangrijkste producenten van mest: runderen, varkens en pluimvee (kippen). Verder is onderscheid gemaakt in graslanden en akkers, vanwege het gebruik van dierlijke mest op deze gronden (op graslanden grazen namelijk alleen koeien). Uit de gegevens van het CBS wordt duidelijk dat op een aantal akkerbouwregio's in het (noord) oosten, zuiden en midden van het land er veel dierlijke mest wordt toegepast. Verder wordt ook op de graslandregio's in het westen van Friesland en het oosten van Zuid-Holland veel dierlijke mest (vooral van melkkoeien) toegepast.

Antibiotica gaan onder andere bacterie-infecties in dieren tegen. Deze werking kunnen ze doorzetten in de mest, de bodem en het grondwater. In diverse onderzoeken komt inderdaad naar voren dat microbiële gemeenschappen worden beïnvloed. Oxytetracycline heeft geen direct effect op bodemorganismen (zoals de aardworm en de springstaart), omdat de hoeveelheden daarvoor te laag zijn. Er is ook geen direct risico voor de volksgezondheid. De mate van

accumulatie is hierbij echter niet meegenomen, omdat hier geen onderzoeken over bekend zijn. Veterinaire antibiotica leveren wel in potentie een indirect risico op wanneer subletale hoeveelheden antibiotica in het milieu komen. Bij subletale hoeveelheden antibiotica kan namelijk resistentie ontstaan. Wanneer voor de mens pathogene bacteriën resistent worden, kunnen er problemen ontstaan voor de volksgezondheid. Deze ziekteverwekkers kunnen dan namelijk niet meer onschadelijk worden gemaakt door antibiotica. Er zijn resistentiegenen gevonden in de bodem en het grondwater, waarbij het niet duidelijk is of het hier om de natuurlijke concentratie gaat of om een verhoogde concentratie door het bemesten. Wel is duidelijk dat de hoeveelheid resistente bacteriën bij vleeskalveren, varkens en vleeskuikens toeneemt. In de varkenssector is de laatste jaren bijvoorbeeld veel aandacht geweest voor MRSA.

In Nederland zijn geen veldstudies bekend die antibiotica in de bodem en het grondwater hebben onderzocht. In algemene zin blijkt dat met name weinig bekend is over verkoop en gebruik van actieve bestanddelen, hoeveel en welke metabolieten worden gevormd, afbraak, toxiciteit, bio-accumulatie en doorvergiftiging.

## Voorwoord

In het kader van een overeenkomst tussen Stichting Kennisontwikkeling Kennisoverdracht Bodem (SKB) en het consortium antibiotica in de bodem is een literatuuronderzoek uitgevoerd naar het gedrag, de effecten en de risico's van veterinaire antibiotica (specifiek oxytetracycline en sulfonmethoxazole) in de bodem en het grondwater.

Het onderzoek is uitgevoerd op basis van interviews met diverse actoren waarvoor in een eerder stadium door het SKB aan Geofox-Lexmond een grant ter beschikking is gesteld. Naar aanleiding van deze interviews, kwamen een tweetal gedeelde conclusies naar voren:

- Er is relatief weinig bekend over het gedrag van antibiotica in dierlijke mest en bodems (grond/grondwater);
- Er is in Nederland vrijwel geen chemisch analytisch veldonderzoek verricht naar aanwezigheid, gedrag en effect van antibiotica in de bodem.

Om voor genoeg draagvlak te zorgen is door Geofox-Lexmond in 2008 een consortium opgericht met diverse eindgebruikers, onderzoekers en klankbordleden. Aan het consortium en klankbord nemen de volgende partijen deel: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducares, TNO/Deltares en Geofox-Lexmond. Het onderhavige rapport is opgesteld door Geofox-Lexmond in samenwerking met diverse consortiumleden. Dit literatuuronderzoek zal de basis vormen van het veldonderzoek dat in het voorjaar van 2009 is gepland. Geofox-Lexmond dankt alle partijen van harte voor hun bereidwillige deelname en het verstrekken van informatie voor het literatuuronderzoek.

November 2008

Geofox-Lexmond bv

## Inhoudsopgave

<b>1</b>	<b>Inleiding</b>	<b>1</b>
	1.1 Situatieschets	1
	1.2 Leeswijzer	3
<b>2</b>	<b>Onderzoeksmethodiek</b>	<b>4</b>
	2.1 opzet	4
	2.2 Afbakening studie	4
	2.3 Aanpak	5
<b>3</b>	<b>Wettelijk kader</b>	<b>6</b>
	3.1 Kwaliteitswetgeving	6
	3.2 Productregelgeving	8
	3.3 Milieubeoordeling	8
	3.4 Kanalisatieregeling	9
	3.5 Openbaarheid van milieu-informatie bij de registratie van diergeneesmiddelen	9
	3.6 Samenvatting	9
<b>4</b>	<b>Het antibioticagebruik in de Nederlandse intensieve veehouderij</b>	<b>11</b>
	4.1 Soorten antibiotica	11
	4.2 Gebruik van antibiotica	11
	4.3 Stofkeuze	14
<b>5</b>	<b>Gedrag van antibiotica</b>	<b>15</b>
	5.1 De emissieroute van veterinaire antibiotica in het milieu	15
	5.2 Het vee	16
	5.3 De mest	18
	5.4 De bodem	21
	5.5 Het grondwater	24
	5.6 De gewassen	25
	5.7 Conclusie	26
<b>6</b>	<b>Effecten van veterinaire antibiotica</b>	<b>28</b>
	6.1 Het vee	28
	6.2 De mest	28
	6.3 De bodem	28
	6.4 Het grondwater	31
	6.5 De gewassen	31
	6.6 Conclusie	32
<b>7</b>	<b>Verspreiding van veterinaire antibiotica in het milieu</b>	<b>33</b>
	7.1 Transport van mest en het gebruik van mineralen in de landbouw	33
	7.2 Gebruik van dierlijke mest op graslanden	34
	7.3 Gebruik van dierlijke mest op akkers	34
<b>8</b>	<b>Risico-evaluatie</b>	<b>36</b>
	8.1 Milieurisico's	36
	8.2 Conclusie	39

<b>9</b>	<b>Conclusie</b>	<b>41</b>
	<b>Begrippenlijst</b>	<b>43</b>
	<b>Begrippenlijst</b>	<b>45</b>

**Bijlagen**

1	Wettelijk kader
2	Antibioticagebruik
3	Gedrag
4	Definitie Ernstig risico
5	Oxytetracycline acute toxiciteitstesten

# 1 Inleiding

## 1.1 Situatieschets

De laatste jaren staan (dier-)geneesmiddelen in het milieu in toenemende mate internationaal in de belangstelling. Er zijn diverse rapporten geschreven over de menselijke geneesmiddelen in het milieu. Over de diergeneesmiddelen in de bodem en het grondwater is echter weinig bekend.

Op 13 november 2008 heeft een consortium met als penvoerder Geofox-Lexmond een overeenkomst afgesloten met de Stichting Kennisontwikkeling Kennisoverdracht Bodem (SKB) voor het uitvoeren van een studie naar antibiotica in de bodem. De centrale vraag van de studie is of en zo ja, in welke mate het gebruik van dierlijke mest leidt tot bodembelasting met antibiotica. In het voortraject waarvoor het SKB een Grant ter beschikking heeft gesteld, zijn 15 interviews afgenomen waarbij de keten van antibiotica van toediening in de veehouderij tot potentiële beïnvloeding van drinkwaterwinning is besproken. De gedeelde conclusies luiden dat relatief weinig bekend is over het gedrag van antibiotica in dierlijke mest en bodems (grond/grondwater) en dat in Nederland vrijwel geen chemisch analytisch veldonderzoek is verricht naar aanwezigheid, gedrag en effect van antibiotica in de bodem. Gezien de breedte van het onderzoeksveld is tevens geconcludeerd dat het onderzoek zich in eerste instantie moet richten op de volgende vraag: "Vormen de met mest in de bodem gebrachte antibiotica, de daaruit voortkomende metabolieten of de door stoffen in de mest beïnvloede bacteriën een probleem voor dier- en volksgezondheid (voedselketen, drinkwaterproductie, resistentieontwikkeling)?"

Het project bestaat uit drie hoofdactiviteiten waarbij de nadruk komt te liggen op het daadwerkelijk meten van de milieubelasting met antibiotica. De volgende producten worden geleverd:

- (literatuuronderzoek) meer duidelijkheid over emissie, transport, gedrag, aanwezigheid en consequenties van dierlijke antibiotica in grond en grondwater;
- (meten van resistentie in de bodem): indicatie van mogelijke verhoging van de natuurlijke resistentie voor antibiotica door mesttoediening;
- (meten grondwater): indicatie of bodembemesting met dierlijke mest tot aantoonbare belasting van het grondwater leidt en inzicht in de toepasbaarheid van GeoPEARL voor het voorspellen van antibiotica concentraties in bodem en grondwater.

Onderhavig rapport beschrijft de uitkomsten van het literatuuronderzoek.

### *Diergeneesmiddelengebruik in Nederland*

De veestapel in Nederland kreeg/krijgt diverse middelen via het voer of therapeutisch toegediend om infecties met parasieten en bacteriën te voorkomen. Verder zorgen de geneesmiddelen voor een stimulatie van de darmflora, waardoor voedingsstoffen beter worden opgenomen. Hierbij speelt een economisch belang: wanneer voedingsstoffen beter worden opgenomen, groeit het vee sneller. Hierdoor wordt onder andere de stallingstijd korter, wat economisch weer voordeliger is {Oosterwegel J.L.V., 2008}. Van de diergeneesmiddelen worden veterinaire antibiotica het meest gebruikt. Met een antibioticaverbruik van 543 ton in 2006, is Nederland een grootverbruiker binnen Europa {FIDIN 2007}. Bij het injecteren van mest in de bodem kunnen de antibiotica en hun metabolieten mogelijk versneld in de bodem terecht komen {Lahr J., 2004}. Over de effecten die de antibiotica en de metabolieten daarna hebben in het milieu is weinig bekend. Waarschijnlijk doen de middelen in het milieu precies waarvoor ze bedoeld zijn, namelijk giftig zijn voor bacteriën en schimmels.

### *Risico's*

In Nederland is in water en in mindere mate in de bodem en het grondwater gezocht naar vooral humane geneesmiddelen. Hierbij gaat het om minder dan 10% van het totaal aantal tonnage geneesmiddelen dat wordt gebruikt. Goed afbreekbare (vooral humane) geneesmiddelen worden voortdurend aangetoond in het oppervlaktewater. Dit komt door de permanente aanvoer van effluent vanuit de rioolwaterzuiveringsinstallaties. Hierdoor heeft de blootstelling van waterorganismen aan residuen en metabolieten van geneesmiddelen een chronisch karakter. De concentraties gemeten in het oppervlaktewater hebben dezelfde orde van grootte als bestrijdingsmiddelen. Een kleine hoeveelheid antibiotica kan grote gevolgen hebben doordat bacteriën in leven blijven waardoor resistentieontwikkeling zal optreden. Het is onduidelijk hoeveel (dier) geneesmiddelen er uiteindelijk zullen worden aangetroffen in de bodem en het grondwater. Er is namelijk niet voor alle (dier-)geneesmiddelen een chemische monitoring aanwezig. Schattingen zijn onnauwkeurig omdat de gegevens over de omvang van het gebruik niet openbaar zijn. Daarnaast zijn er te weinig gegevens over de verspreiding, omzetting en afbraak. Met de kennis die er op dit moment is kan niet met zekerheid worden aangegeven in welke mate (dier-) geneesmiddelen het milieu belasten. De gegevens die beschikbaar zijn geven echter reden tot zorg {*Gezondheidsraad, 2001*}.

### *Conclusie*

In Nederland is weinig bekend over de emissies van antibiotica naar de bodem en het grondwater en de mogelijke (ecologische) effecten. Hierdoor is niet bekend of de problematiek in Nederland speelt en welke antibiotica een rol spelen. In vergelijking met andere landen is in Nederland nauwelijks onderzoek gepleegd.

### **Doelstelling**

*Doormiddel van een literatuurstudie inzicht geven in voorkomen, emissie, transport, gedrag, aanwezigheid en consequenties van dierlijke antibiotica in grond en grondwater (door middel van een procesanalyse en de inventarisatie van vigerende wet- en regelgeving).*

Door een combinatie van een procesanalyse en de inventarisatie van vigerende wet- en regelgeving, zal meer duidelijkheid ontstaan in emissie, transport, gedrag, aanwezigheid en consequenties van dierlijke antibiotica in grond en grondwater. Hierbij zal een focus aangebracht worden door met name te kijken naar de intensieve veehouderij in waterwingebieden met de grootste hoeveelheid aan mestverspreiding en een bodemtype dat het gevoeligst is voor uitspoeling.

### **Probleemstelling**

*Wat zijn de belangrijkste factoren die een rol spelen bij een mogelijke invloed van dierlijke antibiotica op grond en grondwater in waterwingebieden waar sprake is van mestverspreiding door de intensieve veehouderij?*

### *Doelgroep*

Dit rapport is geschreven voor beleidsmakers, onderzoekers, producenten van dierlijke antibiotica, gebruikers van dierlijke antibiotica in de intensieve veehouderij, drinkwaterbedrijven en overige geïnteresseerden.

### *Kernbegrippen*

*Antibiotica: Actieve stoffen die bacteriën en schimmels doden of de groei remmen. Ze worden gebruikt als geneesmiddel om infecties te bestrijden.*

*Procesanalyse: Via een procesanalyse worden de belangrijkste processen weergegeven van antibiotica in het milieu. Daarbij wordt gekeken naar het gedrag, de effecten en de risico's van veterinaire antibiotica in diverse milieucompartmenten (vee, mest, bodem, grondwater en gewassen). Hierdoor wordt inzicht gekregen in wie en wat actief is op een bepaald moment en op een bepaalde plaats in de keten.*



Vigerende wet- en regelgeving: Op dit moment voor antibiotica geldende product- en kwaliteitswet- en regelgeving.

Intensieve veehouderij: Intensieve veehouderij is niet gebonden aan land voor de voedselvoorziening. Voorbeelden van typische intensieve veehouderijen zijn bijvoorbeeld de vleeskalverenhouderij, de varkenshouderij en de pluimveehouderij.

Mestverspreiding: Op dit moment wordt mest op het land geïnjecteerd of de dieren verspreiden de mest. Met het injecteren wordt de kans vergroot dat antibiotica direct in de bodem en het grondwater komt.

Waterwingebieden: Waterwingebieden zijn gebieden direct rondom winputten, waaruit voor de drink- voorziening grondwater wordt gewonnen.

Belangrijkste factoren: Hiermee worden de:

- milieufactoren bedoelt, die van toepassing zijn voor dierlijke antibiotica in grond en grondwater. Hierbij wordt gedacht aan abiotische en biotische factoren.
- overige factoren bedoelt, zoals bijvoorbeeld de toedieningwijze en het wettelijk kader.

Mogelijke invloed: Mogelijke effecten van antibiotica op grond en grondwater.

## 1.2 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 wordt aangegeven hoe het literatuuronderzoek tot stand is gekomen. Hoofdstuk 3 geeft het wettelijk kader weer, waarna in hoofdstuk 4 het antibioticagebruik in de intensieve veehouderij wordt onderzocht. Het gedrag van antibiotica in het milieu wordt in hoofdstuk 5 behandeld. Hoofdstuk 6 geeft de effecten van antibiotica in het milieu weer. En in hoofdstuk 7 worden mogelijke risico's aangegeven in verband met het gebruik van veterinaire antibiotica in de intensieve veehouderij. Tenslotte volgen de conclusies in hoofdstuk 8. Verder zijn in het rapport een begrippenlijst, een bronnenlijst en enkele bijlagen opgenomen.

## 2 Onderzoeksmethodiek

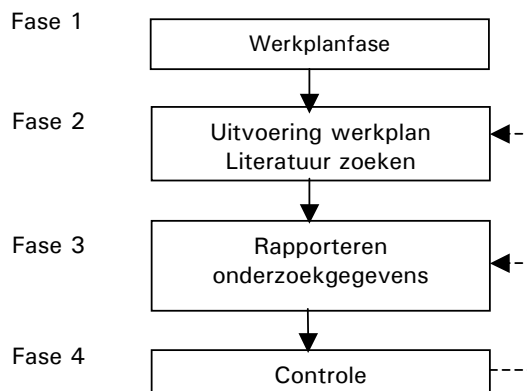
In dit hoofdstuk wordt beschreven hoe er antwoord is gegeven op de onderzoeksvraag en het realiseren van de doelstelling. Voor de beantwoording van de vragen is er een literatuuronderzoek uitgevoerd.

### 2.1 Opzet

In deze literatuurstudie zijn vier stappen te onderscheiden (in figuur 2.1 schematisch weergegeven):

1. Allereerst werd het werkplan opgesteld.
2. In de tweede fase werd er literatuur gezocht.
3. De derde fase bestond uit het rapporteren van de gevonden literatuur.
4. De vierde en laatste fase bestond uit het controleren van het onderzoek

Tijdens het opstellen van het literatuuronderzoek is het belangrijk om informatie te controleren. Er kan bijvoorbeeld informatie ontbreken of informatie is onvoldoende betrouwbaar. Dan kan terug worden gegaan naar bijvoorbeeld de tweede fase. Ook kan het zijn dat er fouten zijn gemaakt tijdens het rapporteren. Wanneer hier fouten in zijn gemaakt, kan er terug worden gegaan naar de derde fase *{Open Universiteit Nederland, datum onbekend}*.



Figuur 2.1: schematische weergave van het (literatuur) onderzoekproces

### 2.2 Afbakening studie

De afgelopen jaren zijn er veel nieuwe studies verschenen in verband met diergeneesmiddelen in het milieu. Deze studie is dan ook een literatuuronderzoek naar datgene wat (in het buitenland) al bekend is over het voorkomen, het gedrag, de effecten en de risico's van diergeneesmiddelen in de bodem en het grondwater. Hierbij is een afbakening gemaakt door te kijken naar de veterinaire antibiotica in de (pluim-)veeteelt, omdat antibiotica veelvuldig worden gebruikt in deze sector. Via bemesting kunnen de antibiotica in de bodem en het grondwater terecht komen. Verder is geprobeerd om te kijken naar de verspreiding van antibiotica in waterwingebieden met een zandige bodem. Hier kunnen de antibiotica in theorie namelijk risico's opleveren voor de volksgezondheid, in verband met het mogelijk voorkomen van antibiotica in het grondwater (drinkwater). Tijdens dit onderzoek zijn zowel laboratoriumstudies als veldstudies bekeken. Er is geen aandacht geschonken aan de humane antibiotica, de antibiotica in de visteelt en aquacultuur en middelen die bij huisdieren worden toegepast.

De intentie van dit onderzoek is kennisverwerving. Hierbij is het niet de bedoeling om bijvoorbeeld de precieze hoeveelheden van de antibiotica op te sporen. Dit is niet haalbaar omdat er mogelijk te weinig gegevens beschikbaar zijn. Daarnaast worden, in verband met de tijd, niet alle antibiotica onderzocht. Dit onderzoek richt zich op de antibiotica die het meest gebruikt worden en/of voor mogelijk de meeste risico's zorgen. Door een globale inschatting kan worden bepaald waar mogelijk de grootste risico's liggen.

### 2.3 Aanpak

Er is informatie gezocht op het internet, via openbare bibliotheken, via de bibliotheek en een literatuursysteem van het RIVM. In de internet- en literatuurbronnen is gezocht op: 'Grondwaterrichtlijn', 'Kaderrichtlijn water', 'Kaderrichtlijn bodem', 'Drinkwaterrichtlijn', 'wet bodembescherming', 'Diergeneesmiddelenrichtlijn', 'diergeneesmiddelenwet', 'sulfonamiden', 'tetracyclinen', 'oxytetracycline' en 'sulfamethoxazole'.

Vanwege de geringe hoeveelheid Nederlandse literatuur met betrekking tot diergeneesmiddelen in het milieu, is veel op buitenlandse literatuur gezocht. Relevante woorden die daarbij gebruikt zijn: 'oxytetracyclin', 'sulfamethoxazol', 'soil/böden', 'manure/gülle', 'slurry', 'sulphonamide', 'sulfonamides', 'tetracycline', 'veterinary pharmaceuticals', 'antibiotic(s)', 'antibacterial', 'antimicrobial', 'resistance', 'cattle', 'pigs', 'cows', 'broiler', 'terrestrial', 'risk', 'crop', 'plant', 'bacteria', 'fauna', 'PEC', 'NOEC' en 'toxicity'. Dit leverde een groot aantal wetenschappelijk artikelen en rapporten op. De relevante titels zijn doorgenomen. Daarnaast zijn ook reviews doorgenomen, waarin een aantal gevonden artikelen en rapporten zijn opgenomen.

Naast de diverse internet- en literatuurbronnen is er verder gebruik gemaakt van de kennis en kunde van de diverse consortiumleden.

### 3 Wettelijk kader

In dit hoofdstuk wordt beschreven welke wet- en regelgeving is opgesteld in verband met de diergeneesmiddelen en het milieu. Hierbij gaat het om de regelgeving voor de registratie van antibiotica (productregelgeving) en het kwaliteitsbeleid voor diergeneesmiddelen in de bodem en het grondwater. In bijlage 1 is het wettelijk kader uitgebreid toegelicht.

#### 3.1 Kwaliteitswetgeving

##### Europees:

##### Oude Grondwaterrichtlijn (80/68/EG):

De oude Grondwaterrichtlijn heeft als doel om de grondwaterkwaliteit in Europa te verbeteren en/of verontreinigingen in het grondwater te voorkomen. Om het grondwater te beschermen tegen allerlei stoffen, wordt in de oude Grondwaterrichtlijn gewerkt met een zwarte en een grijze stoffenlijst. In deze stoffenlijsten staan stoffen aangegeven waarvan lozing voorkomen ("zwarte lijst") of beperkt ("grijze lijst") moet worden. De stoffen zijn in de lijsten weergegeven op basis van structuur, biologische activiteit, herkomst, fysisch-chemische reactiviteit of samenstelling (aanwezigheid van een element) {*Montforts et al., 2006*}. Dierlijke antibiotica vallen mogelijk onder de zwarte stoffenlijst, categorie 4: "Stoffen die in of via het water een kankerverwekkende, mutagene of teratogene werking hebben". Wanneer stoffen niet onder de twee lijsten vallen, moet het bevoegd gezag bepalen waar de stoffen onder vallen. Nationaal gezien is de oude Grondwaterrichtlijn geïmplementeerd in de wet Bodembescherming, de Grondwaterwet, de wet Milieubeheer en in de toekomst in de nieuwe Waterwet. Er is in 2006 een nieuwe Grondwaterrichtlijn opgesteld. De oude Grondwaterrichtlijn wordt op 22-12-2013 ingetrokken. Tot deze tijd geldt de oude Grondwaterrichtlijn in combinatie met de nieuwe Grondwaterrichtlijn.

##### Kaderrichtlijn water (2000/60/EG):

De Kaderrichtlijn water heeft als doel om onder andere een vermindering van verontreinigingen te bewerkstelligen en de beschikbaarheid van voldoende oppervlakte en grondwater van goede kwaliteit te waarborgen. De Kaderrichtlijn water werkt daarbij met een "goede toestand" in ecologisch en chemisch opzicht. Voor grondwater wordt gekeken naar de "goede chemische toestand". Deze "goede toestand" is een harde eis, waaraan Nederland in 2015 moet voldoen. Wel worden "gevaarlijke stoffen" benoemd. Hierbij gaat het om toxische, persistente en bioaccumulerende stoffen en andere stoffen of groepen van stoffen die aanleiding geven tot bezorgdheid. Hiermee kan worden gesteld dat antibiotica (over het algemeen geneesmiddelen), indirect niet worden uitgesloten.

##### Nieuwe Grondwaterrichtlijn (2006/118/EG):

Vanuit artikel 17 van de Kaderrichtlijn water is in 2006 de nieuwe Grondwaterrichtlijn opgesteld. De nieuwe Grondwaterrichtlijn is opgesteld om verontreinigingen van het grondwater te verminderen, voorkomen en beheersen. De bescherming die in de oude Grondwaterrichtlijn is opgesteld wordt in de nieuwe Grondwaterrichtlijn gecontinueerd. Ook in de nieuwe Grondwaterrichtlijn wordt, net als in de Kaderrichtlijn water, gewerkt met de "goede chemische toestand". Deze "goede chemische toestand" moet in 2015 gerealiseerd zijn. Volgens de nieuwe Grondwaterrichtlijn moet iedere lidstaat voor het eind van 2008 drempelwaarden voor grondwaterverontreinigende stoffen en indicatoren van verontreinigingen opstellen. Deze drempelwaarden zijn niet bedoeld voor de beoordeling van lokale situaties, zoals bestaande bodem- of grondwaterverontreinigingen of het inbrengen van verontreinigingen in de bodem. Wanneer het echter technisch mogelijk is, moeten maatregelen worden genomen om verontreinigingen vanuit lokale en diffuse bronnen tegen te gaan. De vermessing in het landelijk gebied wordt bijvoorbeeld gezien als een diffuse bron. Op dit moment

is nog niet duidelijk of antibiotica worden meegenomen. Het vaststellen van de drempelwaarden gebeurt door het ministerie van VROM. De implementatie van deze richtlijn gebeurt met name in de Wet milieubeheer en de Wet bodembescherming.

Kaderrichtlijn bodem (toekomst):

De Kaderrichtlijn bodem heeft als doel om bodemfuncties te beschermen, verontreinigende bodems te herstellen, het voorkomen van de achteruitgang van bodems en bodembescherming in andere beleidsvelden te integreren. Daarnaast moet de richtlijn een stimulans zijn voor lidstaten, om de bodem en het grondwater te beschermen. Zij moeten passende maatregelen nemen om te voorkomen dat gevaarlijke stoffen die een risico vormen voor mens en milieu in de bodem komen. Een grote groep van gevaarlijke stoffen en gebieden gaan vallen onder de werking van de Kaderrichtlijn bodem. Hierbij gaat het ook om de diffuse verontreinigingen in het landelijk gebied. Eind 2007 is de Kaderrichtlijn bodem afgewezen. Verwacht wordt dat de richtlijn in 2008 of 2009 wordt aangenomen.

Drinkwaterrichtlijn (98/83/EG):

De drinkwaterrichtlijn heeft als doel om de volksgezondheid te beschermen tegen schadelijke gevolgen van een verontreiniging van voor menselijk consumptie bestemd water. Wanneer het drinkwater verontreinigd is, moeten lidstaten maatregelen nemen. Daarbij moeten lidstaten kwaliteitseisen stellen aan het drinkwater. In de Drinkwaterrichtlijn zijn een aantal parameters opgenomen waaraan de kwaliteit van het drinkwater moet voldoen. De lijst met parameters wordt eens in de vijf jaar aangepast. Op dit moment zijn antibiotica niet meegenomen.

**Nationaal:**

Bescherming bodem/grondwaterkwaliteit naar het nationale recht:

De regels die zijn opgenomen in de oude Grondwaterrichtlijn en de Kaderrichtlijn bodem, zijn/worden onder meer geïmplementeerd in de Wet bodembescherming. De Wet bodembescherming heeft als doel om de bodem en het grondwater te beschermen, zodat deze nu en in de toekomst kan worden benut door mens, dier en plant. De diergeneesmiddelen zijn niet expliciet meegenomen in de Wet bodembescherming. Toch moet worden aangegeven dat er een algemene zorgplicht geldt. De zorgplicht is een soort vangnet. In de zorgplicht staat aangegeven dat alle maatregelen moeten worden genomen om de introductie van stoffen die kunnen zorgen voor een verontreiniging in de bodem en het grondwater te voorkomen. Regelgeving vanuit de Wet bodembescherming vindt vooral plaats doormiddel van algemene regels (Amvb's). Verder kan een vergunning op grond van de Wet milieubeheer voorschriften bevatten voor de bescherming van het grondwater. Het belangrijkste instrument vanuit het nationale beleid voor wat betreft de bodem en het grondwater, is het Lozingenbesluit Bodem. In het Lozingenbesluit Bodem wordt de lozing van vloeistoffen in de bodem gereguleerd. Het besluit is echter niet van toepassing voor dierlijke mest. Verder is in jurisprudentie van het Hof van Justitie bepaald dat mest die op de bodem wordt gebracht geen afvalstof is (C-416/02) {EHJ, 2005<sup>2</sup>}. Hierdoor is het storten van mest niet gereguleerd in het Stortbesluit bodembescherming en in artikel 10.2 van de Wet milieubeheer. Ook de Nitraatrichtlijn heeft invloed. De Nitraatrichtlijn heeft als doel om onder andere het grondwater te beschermen tegen verontreinigingen met nitraten. De richtlijn reguleert echter niet in het algemeen de verontreinigingen van de stoffen in de mest. Verontrustend is daarom de uitspraak van het Hof van Justitie van 8 september 2005 in zaak C-121/03 {EHJ, 2005<sup>1</sup>}. Uit de uitspraak van het Hof van Justitie is op te maken dat de Nitraatrichtlijn het exclusieve kader is voor wat betreft een waterverontreiniging en dat de Grondwaterrichtlijn en Richtlijn 76/464/EEG (gewijzigd door Richtlijn 2006/11/EG) niet van toepassing is op een waterverontreiniging door meststoffen. Waarbij het niet duidelijk is of het om grond- en/of oppervlaktewater gaat. Als de Nitraatrichtlijn het exclusieve toetsingskader vormt, ontbreekt er op Europees niveau deels regelgeving voor grondwaterbescherming. In mest komen namelijk niet alleen meststoffen voor, er kunnen bijvoorbeeld ook antibiotica in zitten.

De Nitraatrichtlijn wordt niet ingetrokken wanneer de KRW in werking treedt. Als de Nitraatrichtlijn het exclusieve kader blijft, dan kan worden aangenomen dat niet aan de doelstelling van de KRW wordt voldaan. Aangezien sinds de inwerkingtreding in 1991 van de Nitraatrichtlijn, de waterverontreinigingen met nitraten zijn toegenomen, in plaats van afgenomen *{Montforts et al., 2006}*.

### 3.2 Productregelgeving

#### Europees:

##### Diergeneesmiddelenrichtlijn (2001/82/EG):

Het hoofddoel voor wat betreft de productie en distributie van diergeneesmiddelen is de bescherming van de volksgezondheid. In de Diergeneesmiddelenrichtlijn wordt gekeken naar de werking van een stof om te bepalen of een stof valt onder de definitie van bijvoorbeeld een diergeneesmiddel *{Montforts et al., 2006}*. Hierbij gaat het om diergeneesmiddelen in de vorm van geneesmiddelen, voorgemaakte geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik of voormengsels voor diervoeders met een medicinale werking. Antibiotica vallen daarbij onder de definitie van een diergeneesmiddel. Om een vergunning te krijgen voor een diergeneesmiddel moet onder andere een milieubeoordeling worden gedaan. Wanneer een vergunning wordt afgegeven geldt deze voor de hele Europese Gemeenschap.

##### Verbod op antimicrobiële groeibevorderaars (1831/2003/EG):

Sinds 2006 is het niet meer toegestaan om antimicrobiële groeibevorderaars toe te voegen aan het veevoer (volgens art. 11, lid 2 Verordening nr. 1831/2003/EG), met uitzondering van coccidiostatica en histomonostatica. Antibiotica mogen nog wel op therapeutische basis worden toegediend.

#### Nationaal:

##### Diergeneesmiddelenwet:

In de Diergeneesmiddelenwet wordt beschreven wat een diergeneesmiddel is en hoe er mee om moet worden gegaan. Hierbij gaat het ook gekeken naar de bereiding van het diergeneesmiddel. Vanuit de Diergeneesmiddelenwet wordt duidelijk dat het verboden is om een diergeneesmiddel zonder vergunning te bereiden, voorhanden of in voorraad te hebben. Wanneer een Europese registratieprocedure is doorlopen, geldt dit verbod niet. Als een geneesmiddel in het belang van de volksgezondheid ongewenst is, wordt er geen vergunning uitgegeven. Net als in de Diergeneesmiddelenrichtlijn vallen antibiotica in de Diergeneesmiddelenwet onder de definitie van diergeneesmiddelen. Vandaar dat op veterinaire antibiotica de diergeneesmiddelenwet van toepassing is.

### 3.3 Milieubeoordeling

Tijdens de milieubeoordeling wordt de kwaliteit, de veiligheid en de werkzaamheid van een diergeneesmiddel aangetoond. Hierbij gaat het onder andere over de mogelijke risico's die het diergeneesmiddel kan hebben voor het milieu en de gezondheid van mensen, dieren en planten. Voor de toelating van diergeneesmiddelen heeft de Europese Unie richtlijnen voor een milieurisico-analyse (ERA) opgesteld *{Directive 2001/83/EC, aangepast in 2004, EMEA, 2007; VICH, 2007}*. Wanneer in de bodem een drempelwaarde van 100 µg/kg wordt overschreden (Fase I), is een verfijnde milieustudie nodig (Fase II). Het is niet duidelijk of resistentie wordt onderzocht. Wanneer blijkt dat de kwaliteit, de veiligheid of de werkzaamheid van een diergeneesmiddel niet voldoende door de aanvrager is aangetoond, kan deze geweigerd worden. De ecotoxicologische effecten vallen hierbij onder de veiligheidseisen. Op Nationaal niveau adviseert het Bureau

Diergeneesmiddelen in verband met de toelating van diergeneesmiddelen. Hierbij wordt, op basis van de diergeneesmiddelenwet, met name op naar de werkzaamheid en de veiligheid van de stof gekeken.

### 3.4 Kanalisatieregeling

De betekenis van kanalisatie kan kort worden omschreven als de manier waarop geneesmiddelen de weg vinden van fabrikant naar het dier. Deze regeling geldt voor diergeneesmiddelen die zonder tussenkomst van de dierenarts schade kunnen opleveren voor onder andere het milieu. In dit onderzoek zijn twee categorieën van belang:

- UDD: diergeneesmiddelen die uitsluitend door de dierenarts mogen worden toegepast.
- UDA: diergeneesmiddelen die op voorschrift van een dierenarts, door dierenartsen of apothekers worden afgeleverd en door de veehouder zelf toegediend mogen worden.

De doelstelling is het waarborgen van een zorgvuldige omgang met diergeneesmiddelen door tussenkomst van de dierenarts te verplichten. Dit betekent dat de dierenarts als poortwachter functioneert. Daarbij is de dierenarts onafhankelijk en autonoom. Het is echter opmerkelijk dat dierenartsen niet alleen antibiotica mogen voorschrijven maar ook mogen leveren. Hierdoor kan een spanningsveld ontstaan tussen de rol als poortwachter en commerciële belangen en daarmee "het waarborgen van een zorgvuldige omgang met diergeneesmiddelen door tussenkomst van de dierenarts" in het geding komen.

### 3.5 Openbaarheid van milieu-informatie bij de registratie van diergeneesmiddelen

In verband met het commerciële belang worden milieugegevens vaak door bedrijven achtergehouden. Hierdoor is het erg lastig voor het bevoegd gezag om normen op te stellen. De gegevens die worden verkregen in verband met bijvoorbeeld de milieueigenschappen van een diergeneesmiddel zijn echter niet volledig geheim. Een samenvatting met de eindconclusies (bijvoorbeeld de NOEC's en de halfwaardetijden) kan door het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen openbaar worden gemaakt. Een samenvatting met de eindconclusies heeft verder weinig commerciële waarde, terwijl het publieke belang erg groot is

### 3.6 Samenvatting

In de regelgeving kan onderscheid worden gemaakt in de kwaliteitsregelgeving en de productregelgeving. De kwaliteitsregelgeving geeft globaal weer aan welke kwaliteiten het milieu moet voldoen. Antibiotica zijn op dit moment niet expliciet meegenomen in de Europese en nationale kwaliteitsregelgeving. Hierdoor zijn er ook geen normen opgesteld, in verband met diergeneesmiddelen in het milieu. Daarentegen geeft de kwaliteitsregelgeving wel aan dat de introductie van stoffen die een vermindering of bedreiging vormen voor mens/plant/dier voorkomen, beperkt of ongedaan moet worden gemaakt. Daarnaast geldt er Nationaal een zorgplichtbepaling. De Nitraatrichtlijn wordt gezien als het exclusieve kader, als het gaat om een grondwaterverontreiniging. Hierdoor ontbreekt er regelgeving, omdat in de Nitraatrichtlijn alleen nitraat wordt gereguleerd. Andere stoffen die in de mest zitten worden hierin niet specifiek meegenomen. In de productregelgeving wordt vooral naar de werking van een stof gekeken om te bepalen of een stof valt onder de definitie van bijvoorbeeld een diergeneesmiddel. Ook wordt aangegeven waar een diergeneesmiddel aan moet voldoen om een vergunning te krijgen. Zo moet onder andere via een milieustudie worden aangetoond dat antibiotica geen risico's met zich meebrengen voor het milieu. Tijdens de milieustudies wordt gekeken naar de hoeveelheden antibiotica in het milieu en de mogelijk effecten. Daarbij wordt een drempelwaarde gehanteerd van 100 µg/kg in de bodem. Wanneer deze drempelwaarde wordt overschreden, is verder

*Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducaras, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond*

onderzoek nodig. Onduidelijk is of er ook wordt gekeken naar resistentie. De milieustudies zijn niet openbaar. Hierdoor kunnen er moeilijk normen op worden gesteld. Antibiotica die een vergunning krijgen mogen op voorschrift van een dierenarts, door dierenartsen of apothekers worden afgeleverd. Hierna mogen de diergeneesmiddelen door de veehouder zelf (UDA) of door de dierenarts worden toegediend (UDD). De dierenarts fungeert hierbij als poortwachter. Een rol die in het geding kan komen indien de dierenarts ook commerciële belangen heeft bij het leveren van antibiotica. Het is echter opmerkelijk dat een dierenarts, naast dat ze antibiotica voorschrijven, antibiotica ook kunnen afleveren. Hierdoor is er de mogelijkheid dat ze verdienen aan de diergeneesmiddelen, waardoor de doelstelling "het waarborgen van een zorgvuldige omgang met diergeneesmiddelen door tussenkomst van de dierenarts" niet haalbaar lijkt.



## 4 Het antibioticagebruik in de Nederlandse intensieve veehouderij

In dit hoofdstuk wordt bekeken hoe het antibioticagebruik in de Nederlandse intensieve veehouderij is. Daarbij wordt onder andere gekeken naar de meest gebruikte soorten antibiotica, de eigenschappen van deze antibiotica en het antibioticagebruik is per sector. Op basis van dit hoofdstuk worden antibiotica geselecteerd die in het verdere literatuuronderzoek (gedrag, effecten, verspreiding en risico's) nader worden uitgewerkt en in het veld zullen worden gemeten.

### 4.1 Soorten antibiotica

Antibiotica worden vooral therapeutisch toegepast als medicijn tegen infecties van bacteriën en schimmels. Daarnaast worden/werden sommige antibiotica gebruikt als groeipromotor (AGP's) {Lahr J., 2004}. Het laatste is echter sinds 2006 verboden, met uitzondering van coccidiostatica en histomonostatica. Antibiotica worden gebruikt omdat vee dat regelmatig antibiotica krijgt, minder vaak ziek is en bepaalde voedingsstoffen beter kunnen opnemen. Doordat ze stoffen beter kunnen opnemen groeien ze sneller. Hierdoor wordt de tijd dat het vee op stal staat korter, wat economisch voordeliger is. De antibiotica kunnen op twee manieren werken, namelijk: bacteriedodend (bactericide antibiotica) en bacterieremmend (bacteriostatische antibiotica) {Lahr J., 2004}.

In de Nederlandse intensieve veehouderij worden diverse typen antibiotica gebruikt, die weer uit veel verschillende stoffen bestaan. Deze stoffen hebben een verschillende werking en chemische structuur. De antibiotica die het meest gebruikt worden, kunnen worden onderverdeeld in zes groepen {Schmitt H., 2005}.

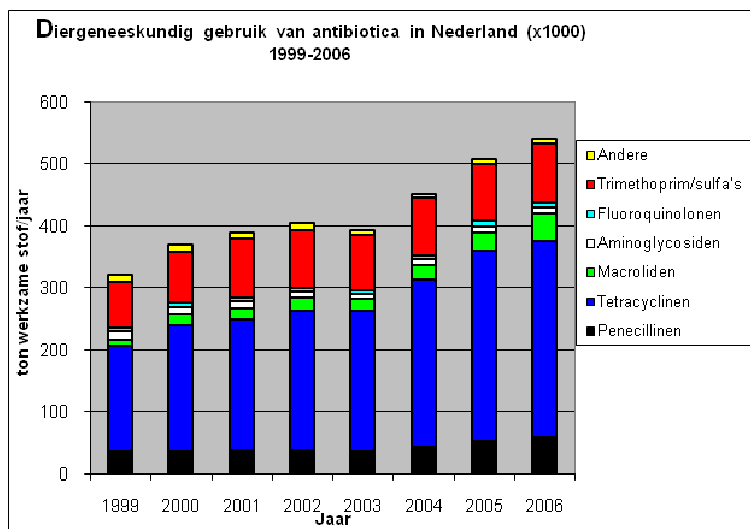
- Tetracyclinen
- Sulfonamiden
- Aminoglycosiden
- Beta-lactam antibioticum
- Macroliden

De verschillende groepen antibiotica zijn kort beschreven in bijlage II, 2.1.

### 4.2 Gebruik van antibiotica

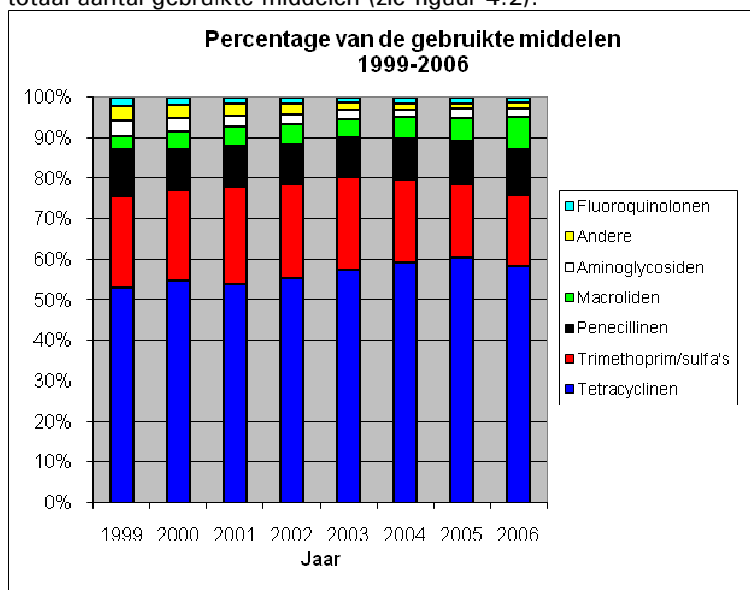
Het therapeutisch verbruik van de antibiotica in Nederland wordt jaarlijks door de FIDIN in beeld gebracht. Hierbij moet worden aangegeven dat de FIDIN niet de totale Nederlandse markt voor diergeneesmiddelen vertegenwoordigt (alleen de leden). Hierdoor kan er een maximale afwijking ontstaan van de cijfers van 5% {FIDIN, 1999}. Verder zijn er in de FIDIN-rapportages alleen groepen antibiotica weergegeven. Voor de meest actieve bestanddelen van de antibiotica, zijn in Nederland geen verbruikscijfers openbaar. Het LEI heeft overigens wel een onderzoek gedaan in verband met het antibioticagebruik per diersector. In dit onderzoek is een onderscheid gemaakt in de meest actieve bestanddelen.

In het onderstaand figuur is te zien dat het antibioticagebruik sinds 2000 flink is toegenomen. Hierbij zijn de tetracyclinen en sulfonamiden de belangrijkste groepen, wanneer wordt gekeken naar het verbruik.



Figuur 4.1 Diergeneeskundig gebruik van antibiotica in Nederland {FIDIN, 2007}

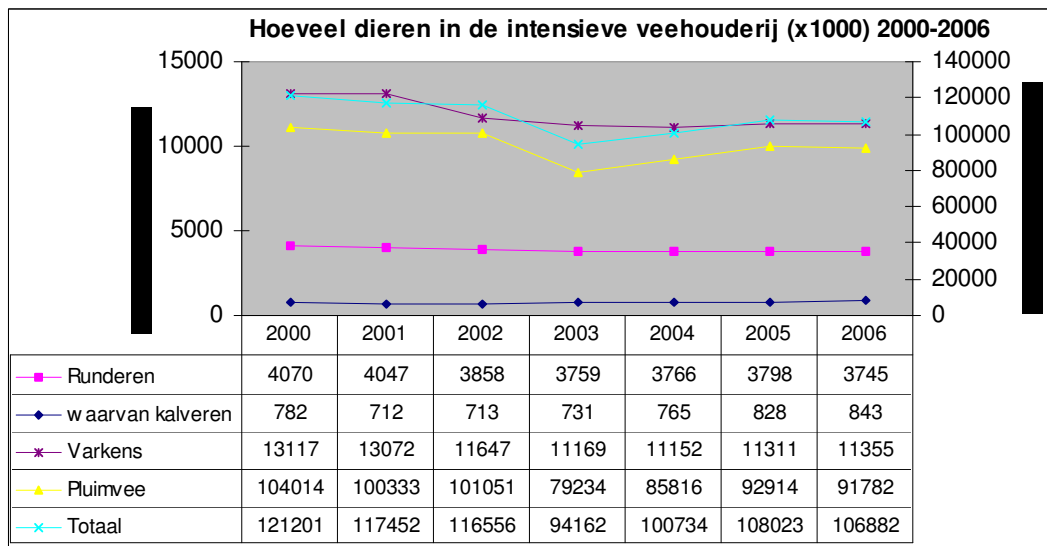
De tetracyclinen en de trimethoprim/sulfonamiden vertegenwoordigen ongeveer 75% van het totaal aantal gebruikte middelen (zie figuur 4.2).



Figuur 4.2 Percentage van de gebruikte middelen {FIDIN, 2007}

Het onderstaande figuur geeft weer hoeveel dieren aanwezig zijn in de intensieve veehouderij. Er is onder meer te zien dat het totaal aantal dieren in vergelijking met het jaar 2000 sterk is afgenomen (13,4%). Verder is te zien dat in de:

- pluimveesector in 2003 een sterke afname plaatsvond van het aantal pluimvee. Dit is te verklaren door de uitbraak van de vogelpest.
- varkenssector de laatste jaren een kleine toename plaatsvond van het aantal dieren (in 2006 een verschil van +0,38% met 2005).
- rundveesector de laatste jaren de hoeveelheden licht afnemen (in 2006 een verschil van -1,4% met 2005). Het aantal kalveren in deze sector groeit de laatste jaren juist enigszins (in 2006 een verschil van +1,8% met 2005).



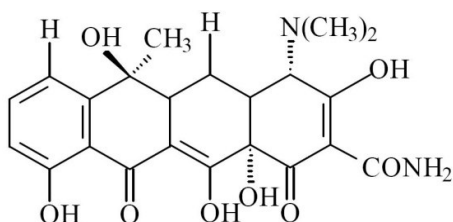
Figuur 4.3 Aantal dieren in de intensieve veehouderij {CBS, 2008}

Uit figuur 4.1 is op te merken dat de hoeveelheid therapeutisch gebruikte dierlijke antibiotica is toegenomen in de afgelopen jaren. De toename vond plaats ondanks dat het aantal dieren in dezelfde tijd achteruit is gegaan. In een enquête die de FIDIN in samenwerking met de KNMvD en de Faculteit diergeneeskunde heeft gehouden, is een aantal redenen voor de toename van het gebruik duidelijk geworden. Het verbod op de antimicrobiële groeibevorderaars, de kwaliteit van het diervoer en de verdere schaalvergroting van de bedrijven zorgen voor een hogere infectiedruk, waardoor er meer antibiotica worden ingezet {FIDIN, 2007}. Een andere reden is het verbod op additieven dat vanaf 2006 heeft kunnen leiden tot een verhoging van het curatief gebruik van antibiotica {Wageningen UR, 2008}.

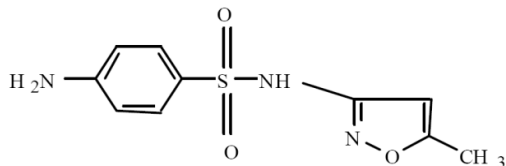
Door de FIDIN is het antibioticagebruik globaal weergegeven. Het LEI (universiteit Wageningen) heeft in 2005 geprobeerd om het antibioticagebruik per diersector gedetailleerder weer te geven. Hierbij gaat het om de rundvee-, varkens-, en pluimveesector.

In 2004 is door het LEI een monitoringsonderzoek gestart {MARAN, 2007}. Het boekhoudnetwerk van het LEI is gebaseerd op een steekproef van ongeveer 2% van de Nederlandse landbouwbedrijven. Helaas zijn hierbij niet alle gegevens meegenomen en ontbreken bijvoorbeeld de gegevens van de vleeskalveren. Uit de LEI-gegevens kan worden opgemaakt dat de meeste antibiotica worden gebruikt bij de biggen en de vleeskuikens (zie bijlage 2).

Uit de tabel in bijlage 2 is op te maken dat de actieve stoffen die in de de tetracycline- en sulfonamidengroep de boventoon voeren, de oxytetracyclinen (figuur 4.4) en sulfamethoxazolen (figuur 4.5) zijn. Hierbij is gekeken naar het verbruik in het laatst aangegeven jaar (2006).



Figuur 4.4 Oxytetracycline {MacKay et al., 2005}



Figuur 4.5 Sulfamethoxazole {Sukul P. et al., 2006}

### 4.3 Stofkeuze

Antibiotica bestaan uit diverse groepen. De antibiotica die het meest worden gebruikt, kunnen worden onderverdeeld in zes groepen. Van deze zes groepen antibiotica worden tetracyclinen en sulfonamiden weer het meest gebruikt. Deze groepen antibiotica bestaan uit diverse actieve stoffen, waarbij de meest gebruikte actieve stoffen de oxytetracyclinen en sulfamethoxazolen zijn. Deze actieve stoffen worden vooral gebruikt in de varkens- en pluimveesector. Ondanks dat het aantal dieren is afgenomen, is het antibioticaverbruik juist toegenomen. Dit is onder andere te verklaren door een hogere infectiedruk.

Gezien de verschillen in eigenschappen van actieve stoffen richt verder (literatuur-)onderzoek zich idealiter op alle actieve stoffen. Hiermee schiet onderhavig project zijn doel echter voorbij en is dit bovendien binnen het project financieel en planningstechnisch niet haalbaar.

Voor het verder onderzoek zijn dan ook de oxytetracyclinen (tetracycline-groep) en de sulfamethoxazolen (sulfonamiden-groep) geselecteerd. De keuze voor deze antibiotica zijn gemaakt op basis van:

- de hoeveelheden: oxytetracycline en sulfamethoxazole worden veel gebruikt (zie hierboven).
- de globale eigenschappen in de bodem: Tetracyclinen adsorberen sterk en sulfonamiden zijn erg mobiel {Schmitt H., 2008}.
- de toepassing: Van tetracyclinen (oxytetracycline) en sulfonamiden (sulfamethoxazole) is bekend dat deze ook in de humane sector wordt gebruikt {Kemper N., 2007}. Hierdoor kan het gebruik van deze middelen in de veterinaire sector mogelijk leiden tot gezondheidsrisico's.

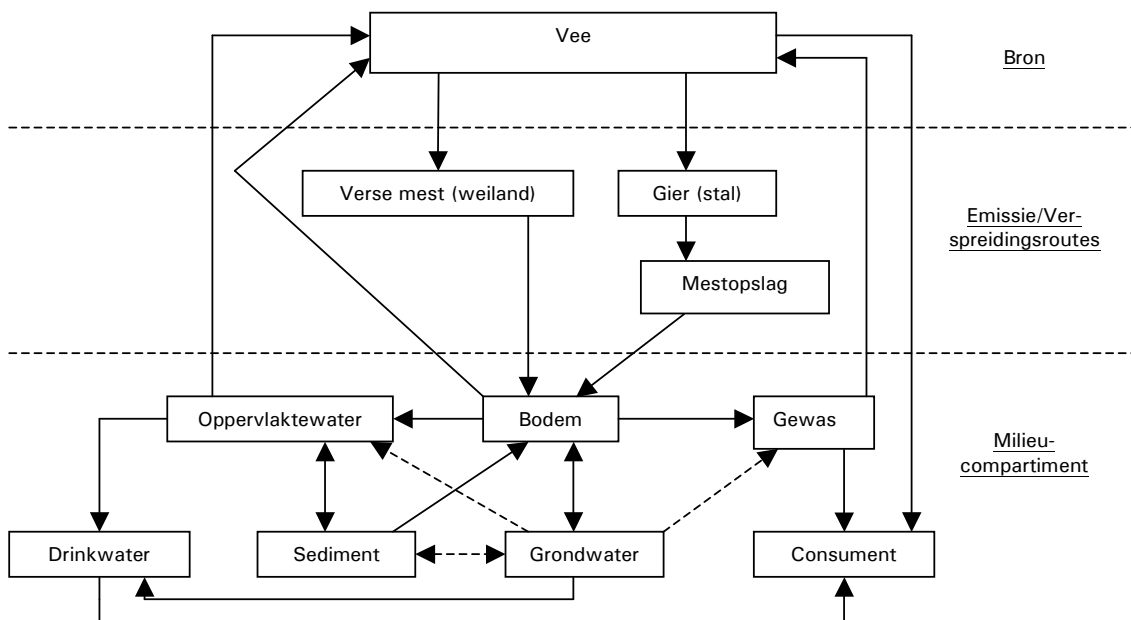
## 5 Gedrag van antibiotica

Antibiotica kunnen in het milieu terecht komen door het gebruik van antibiotica in onder andere de intensieve veehouderij. Om duidelijkheid te krijgen over de mogelijke effecten van antibiotica in het milieu, is het allereerst van belang om het gedrag en de eigenschappen van de antibiotica te onderzoeken. Vandaar dat in dit hoofdstuk gekeken wordt naar de fysische en chemische eigenschappen van de antibiotica in het milieu. Hierbij wordt gekeken naar verspreiding, binding en afbraak. De diverse genoemde factoren worden in bijlage 3 nader toegelicht. Er wordt een onderscheid gemaakt in de diverse (milieu-)compartimenten: vee, mest, bodem, grondwater en gewassen. In dit onderzoek is sediment niet meegenomen omdat dit milieucompartiment erg veel invloeden kent van het oppervlaktewater.

In paragraaf 4.3 is aangegeven dat hier alleen de oxytetracyclinen en de sulfamethoxazolen worden behandeld. Tenzij blijkt dat er geen informatie over oxytetracycline en sulfamethoxazole beschikbaar is. In dat geval wordt gekeken naar andere stoffen uit de sulfonamide- en tetracyclinegroep.

### 5.1 De emissieroute van veterinaire antibiotica in het milieu

In deze paragraaf wordt weergegeven wat de mogelijke verspreidingsroutes zijn van antibiotica in het milieu. De verspreidingsroutes worden weergegeven door middel van het onderstaande stroomschema.



Figuur 5.1 Mogelijke emissieroutes van veterinaire antibiotica in het milieu {Lahr J., 2007; aangepast}

Uitscheiding van antibiotica en de eventuele metabolieten vindt onder andere plaats vanuit landbouwhuisdieren. Door weidedieren die gedeeltelijk buiten worden gehouden kunnen de stoffen via de urine en de mest direct op het land terecht komen {Lahr J., 2007}. Daarnaast is er een belangrijke indirecte emissieroute. Deze route loopt via de mestopslag en de injectie van drijfmest in de bodem. De stoffen kunnen daarna worden opgenomen door planten, adsorberen aan bodemdeeltjes en/of uitspoelen naar het oppervlaktewater en grondwater. Via diverse

routes kunnen de stoffen uiteindelijk bij onder andere de consument terechtkomen, waardoor er mogelijk gevolgen ontstaan voor de volksgezondheid {Lahr J., 2007}. Er is ook nog een derde mogelijkheid, namelijk verlies van diergeneesmiddelen direct in het milieu. Zo wordt bij humane geneesmiddelen een deel van de medicijnen ongebruikt doorgespoeld. Voor diergeneesmiddelen zijn hiervan geen gegevens bekend {Universiteit Leiden, 2008}.

## 5.2 Het vee

Het eerste compartiment in de antibioticaketen is het vee. Hierbij is het allereerst van belang om onderscheid te maken in de diverse soorten vee (kippen, varkens en koeien/kalveren). Het onderscheid moet worden gemaakt in verband met:

- de verschillende soorten antibiotica
- de verschillende werkingsmechanismen van de antibiotica in het vee
- de verschillende toepassingsmogelijkheden
- de uitgangssituatie van de antibiotica
- de verschillende omstandigheden in de diverse lichamen

Door de bovenstaande factoren kunnen de stoffeïenschappen van de toegediende antibiotica veranderen. Hierdoor hebben de antibiotica en/of de metabolieten mogelijk een andere uitwerking op en in de mest en uiteindelijk het milieu.

### 5.2.1 Toedienen van antibiotica

Op welke wijze de antibiotica worden toegepast en hoeveel door het dier wordt opgenomen, heeft gevolgen voor de uiteindelijke hoeveelheid antibiotica in het milieu {Zuidema M. et al., 1993}. De antibiotica kunnen individueel of groepsgewijs worden toegediend. Groepsmedicatie vindt plaats wanneer de kans op besmetting erg groot is. Hierbij worden/werden antibiotica toegediend door middel van gemedicineerd voedsel, via het drinkwater of via het voer {Lahr J., 2004}. Het laatste is sinds 2006 verboden. Dit verbod is ingesteld in verband met de kans op resistentieontwikkeling. Er is daarbij een uitzondering gemaakt voor coccidiostatica en histomonostatica. Individuele medicatie van antibiotica vindt oraal, via injectie of uitwendig plaats. Bij groepsmedicatie worden grotere hoeveelheden antibiotica gebruikt, dan bij individuele toediening {Zuidema M. et al., 1993}. Van de in Nederland gebruikte hoeveelheid antibiotica wordt ongeveer 75% oraal toegediend {Bogaard A. van den., 2000}. Wanneer antibiotica wordt geïnjecteerd, is er de mogelijkheid dat een deel verloren gaat. De kans bestaat namelijk, dat een deel van de antibiotica achterblijft op de huid.

### 5.2.2 Antibiotica in het lichaam

Antibiotica hebben als doel om ziekten te bestrijden en om de gezondheid van (landbouwhuis)dieren te beschermen. Daarnaast zijn veterinaire antibiotica in het nabije verleden gebruikt om ervoor te zorgen dat het voedsel snel wordt opgenomen, waardoor het groeiproces versneld wordt {Boxall A.B.A. et al., 2002}. Sinds 2006 is deze toepassing echter verboden. De antibiotica mogen niet lang in het vee/de veeproducten aanwezig blijven in verband met mogelijke consequenties voor de volksgezondheid. Daarom worden antibiotica afgebroken of kunnen, al dan niet in een gemetaboliseerde vorm, via de feces en/of urine in het milieu terechtkomen {Lahr J., 2004}. Hoeveel stof (metabolieten en pure stof) er uitgescheiden wordt ligt onder andere aan de substantie, de wijze van toepassing, de diersoort, leeftijd, gewicht, hoeveel metabolisme plaatsvindt en de wijze waarop het dier verzorgd wordt na behandeling.

Het metaboliseren van antibiotica in zoogdieren gebeurt in twee fasen. De eerste fase bestaat uit een transformatie, waarna in de tweede fase de moleculen meer hydrofiel worden. Hierdoor kunnen de stoffen beter uitgescheiden worden in urine en de feces {Sukul P. et al., 2006}.

Van sulfonamiden is bekend dat ze voornamelijk worden opgenomen door de dunne darm, in mindere mate door de dikke darm en bijna nooit via de maag. De stoffen worden goed geabsorbeerd na orale toediening. Na absorptie worden de stoffen gedeeltelijk omgevormd in de lever, met als voornaamste metaboliet N4-acetyl derivaat. Sulfonamiden lossen in het water op. De uitscheiding van de sulfonamiden gebeurt voornamelijk via de nieren {Federaal Wetenschapsbeleid, 2007}. De fysisch-chemische eigenschappen van sulfonamiden zijn per soort anders voor wat betreft het moleculair gewicht en de vetachtige oplosbaarheid. Hierdoor verschillen de sulfonamiden onderling duidelijk voor wat betreft de antimicrobiële activiteit en de farmacokinetische eigenschappen {Fidin, 2008}.

Tetracyclinen zijn slecht oplosbaar in water. In de handel worden echter vaak preparaten gebruikt die uit beter oplosbare zouten bestaan (hydrochlorides). De tetracyclinen zijn als droge stof redelijk stabiel, maar in water is dit een stuk minder {Fidin, 2008}. Tetracyclinen kunnen reageren met zowel een base en een zuur (zijn amfooteer) en hebben een zwak lipofiel karakter. De tetracyclinen zijn in diverse omstandigheden van pH en temperatuur onstabiel. In sterk zure condities wordt anhydrotetracycline gevormd, en in licht zure condities het 4-epimeer. De metaboliet 4-epi-oxytetracycline wordt tot 60% gevormd uit oxytetracycline {Boxall A.B.A. et al., 2002}. Tetracyclinen dringen goed door in de weefsels en lichaamsvochten. Hierbij kunnen ze verbindingen vormen met 2- en 3- waardige ionen, zoals calcium, magnesium en ijzer. Een gevolg van de verbinding met calcium is dat tetracyclinen zich ophopen in been en tandweefsel. Oxytetracycline wordt vooral uitgescheiden via de nieren en in mindere mate via de gal {Federaal Wetenschapsbeleid, 2007}.

In tabel 5.1 staat beschreven wat bekend is over de excretie, biologische afbreekbaarheid en het metabolisme van sulfonamiden/sulfamethoxazole en tetracyclinen/oxytetracycline in vee.

(Stof) groep	Gebruik	Metabolisme	Bron	Biologische afbreekbaarheid	Bron	Excretie onveranderd	Bron
Sulfonamiden	-	> 80%	Boxall A.B.A. et al. 2004				
Tetracyclinen	-	< 20%	Boxall A.B.A. et al. 2004				
Sulfamethoxazole	Pluimvee Varkens Mensen	± 85%	Hirsch R. et al., 1999				
Oxytetracycline	Schapen Pluimvee Varkens Kalveren Melkvee Mensen			T ½ = > 20 dagen	Feinman S.E. et al., 1978	20%	Jjemba P.K., 2002

Tabel 5.1 Excretie, biologische afbreekbaarheid en metabolisme

Uit de tabel is op te merken dat tetracyclinen en sulfonamiden voor een deel worden gemetaboliseerd, voordat ze het lichaam verlaten. De hoofdbestanddelen en de metabolieten verlaten het lichaam via de urine en de feces. Het is niet duidelijk hoeveel en welke metabolieten er precies worden gevormd. Wel is duidelijk dat de mest en de urine een mix van de originele antibiotica en metabolieten bevat {Boxall A.B.A. et al. 2002}.

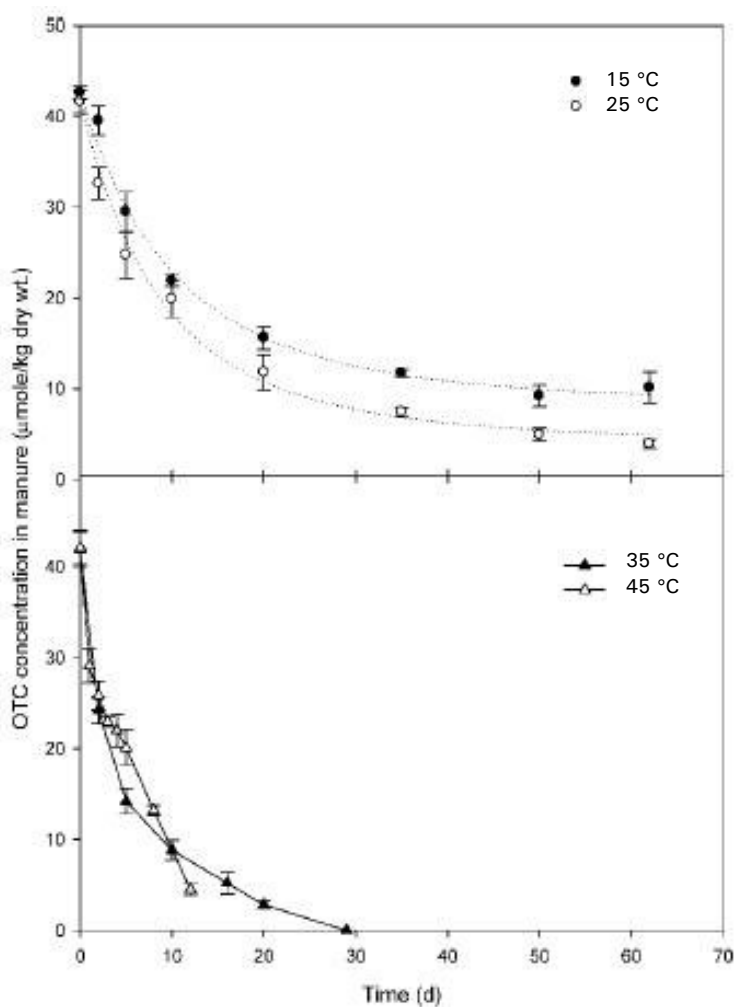
### 5.3 De mest

In de vorige paragraaf is duidelijk geworden dat de antibiotica die het dier in worden gebracht niet volledig worden verbruikt. Deels komen deze antibiotica als pure of gemetaboliseerde stof in de urine/feces terecht {Gool S. van., 1993}. Waarbij over het algemeen 20-90% in de mest terecht komt {Wang Q. et al., 2007}. Voor tetracyclinen en sulfonamiden liggen de uitscheidingsgemiddelden ongeveer tussen de 40% en 90% {Berger K. et al., 1986; Haller M.Y. et al. 2002; Halling-Sørensen B., 2001 geciteerd door Kemper N., 2008}. Hierbij gaat het om gemetaboliseerde en originele stoffen.

In het lichaam van een dier kunnen antibiotica gemetaboliseerd worden tot een stamverwant. Hierdoor kunnen stoffen inactief worden en niet meer worden gemeten. Wanneer de stamverwanten van de antibiotica in de mest terechtkomen, kunnen deze echter weer transformeren in de actieve originele bestanddelen {Christian T. et al., 2003}. Hierdoor kunnen er "onverwacht" toch actieve stoffen in het milieu terechtkomen.

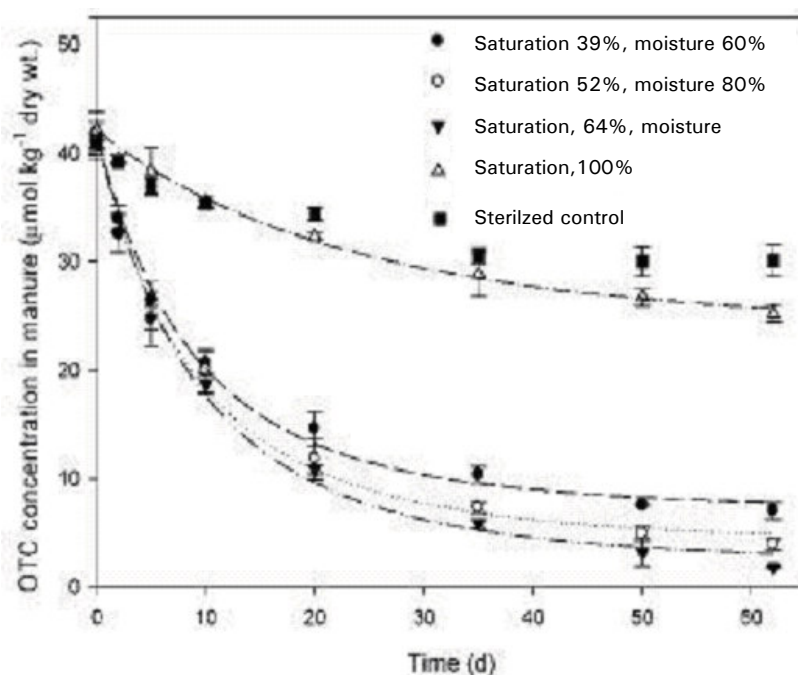
Als er degradatie van stoffen plaatsvindt in het lichaam, gaat het degradatieproces vaak verder in de mest {Kemper N., 2008}. In de mest kunnen diverse factoren een rol spelen bij de afbraak van de antibiotica, zoals de temperatuur, zuurgraad, zuurstofgehalte, de hoeveelheid water en het bacteriegehalte. Wang en Yates hebben door middel van een laboratoriumonderzoek onder aerobe condities, onderzoek gedaan naar het effect van de temperatuur en de hoeveelheid water op de degradatie van oxytetracycline in stierenmest {Wang Q. et al., 2007}. Zij kwamen onder andere tot de conclusie dat oxytetracycline sneller degradeert bij hoge temperaturen (figuur 5.2). Deze degradatie wordt mogelijk veroorzaakt door de thermische degradatie van oxytetracyclinen bij hoge temperaturen.





Figuur 5.2 Degradatie van oxytetracycline (OTC) in mest (Manure) door de temperatuur (thermolyse). Het figuur is direct overgenomen uit het onderzoek van Wang et al. {Wang Q. et al., 2007}.

Bij een grote vochtigheidsgraad (moisture) in combinatie met een hoge verzadiging (saturation), degradeert oxytetracycline snel (figuur 5.3). Dit is te verklaren door de mogelijke hydrolyse van oxytetracycline in de mest.



Figuur 5.3 Degradatie van oxytetracycline (OTC) in mest door de hoeveelheid water (hydrolyse). Het figuur is direct overgenomen uit het onderzoek van Wang et al. {Wang Q. et al., 2007}.

Als het vee op stal staat wordt de mest opgeslagen in mestkelders. Bij de opslag van mest spelen mogelijk andere factoren een rol of worden factoren versterkt in vergelijking met het direct opbrengen van mest. Deze twee routes, inclusief de mogelijke factoren, worden hieronder besproken.

### 5.3.1 Direct op het land brengen van mest

Wanneer mest direct op het land wordt opgebracht, krijgt de mest (dus ook de antibiotica) te maken met diverse vooral abiotische factoren.

Zonlicht, één van de belangrijkste abiotische factoren, speelt mogelijk een rol wanneer het gaat om de degradatie van antibiotica (fotolyse). Stoffen die geen UV-licht adsorberen boven de 290 nanometer, worden niet afgebroken door directe fotochemische mechanismen. Dit komt omdat de ozonlaag alle straling van de zon onder de 290 nanometer tegenhoudt. Het UV-adsorptie spectrum van een stof geeft dus basisinformatie over de mogelijkheid tot fotolyse. Naast fotolyse is hydrolyse een abiotisch proces dat antibiotica mogelijk kan elimineren {Sukul P. et al., 2006}. Het is niet duidelijk hoeveel stof er precies afgebroken wordt. De hoeveelheid stof die afgebroken wordt hangt overigens af van de snelheid waarmee de afbraak plaatsvindt, de hoeveelheid tijd dat de stof belast wordt en de uitgangssituatie.

### 5.3.2 Opslag van mest

De feces en urine van het vee dat in Nederland op stal staat wordt opgevangen in mestkelders. Daarnaast wordt hierin ook spoelwater opgevangen. In deze mestkelders gaat de degradatie en metabolisatie van stoffen verder. Hoeveel antibiotica degraderen en metaboliseren hangt onder meer af van de opslagtijd van de mest en onder welke omstandigheden deze mest wordt

opgeslagen. De opslagtijd van mest is wereldwijd gezien ongeveer 0 tot 48 maanden, met een gemiddelde van ongeveer 6 maanden {Boxall A.B.A. et al., 2004}.

Vanuit de halfwaardetijden kan worden opgemaakt dat niet alle antibiotica even persistent zijn:

- Sulfonamiden hebben een halfwaardetijd van <30 dagen.
- Tetracyclinen hebben een halfwaardetijd van ongeveer 100 dagen.

De bovenstaande halfwaardetijden zijn opgesteld voor de groepen antibiotica, waarbij geen onderscheid is gemaakt in de diverse actieve stoffen. Toch is het belangrijk om de actieve stoffen apart te bekijken omdat binnen een groep gegevens over de halfwaardetijd kunnen afwijken. Voor bijvoorbeeld sulfachloropyridazine (een sulfonamide) is een halfwaardetijd gevonden van minder dan 8 dagen {Boxall A.B.A. et al., 2004}. Ook zijn de omstandigheden waaronder mest wordt opgeslagen erg belangrijk. Zo verdween bij compostering 95% van de oxytetracycline binnen 6 dagen door de hogere temperatuur in de composthoop (die kan stijgen tot 60 °C). Terwijl bij een opslag bij kamertemperatuur hooguit 12% van de oxytetracycline na 37 dagen verdween {Arikan O.A. et al., 2007}. Bij deze vergelijking wordt een kanttekening gemaakt omdat de temperatuur in de composthoop niet bekend was.

## 5.4 De bodem

Via het vee (direct) en door het injecteren (indirect), komt mest inclusief de antibiotica en de metabolieten op en/of in de bodem terecht. De chemische en fysische gedragingen van antibiotica in de bodem zijn vooral afhankelijk van de grootte, moleculaire structuur, oplosbaarheid en of de mate waarin de stof hydrofoob is. Verder hebben diverse biotische en abiotische factoren invloed op de gedragingen van een antibioticum in de bodem. De antibiotica en metabolieten kunnen in de bodem adsorberen, verder afbreken of zich verplaatsen naar het grondwater.

### 5.4.1 Adsorptie aan bodemdeeltjes

Tijdens een onderzoek van Kay, Blackwell et al. werd een agrarische bodem twee jaar lang met varkensmest bemest. Het doel van het onderzoek was om het lot van sulfachloropyridazine (een sulfonamide) en oxytetracycline in de bodem te onderzoeken. Beide stoffen werden gevonden in de bodem. Van oxytetracycline werd echter een hogere concentratie gevonden dan van sulfachloropyridazine. In een drainflow werd juist een hogere concentratie gevonden van sulfachloropyridazine {Kay P. et al., 2004}.

In een studie van Aga, O'Connor et al. werd oxytetracycline alleen in de bodem aangetroffen en niet in het grondwater {Aga D.S. et al., 2005}. Kanttekening hierbij is dat (ook) in deze studie de weersomstandigheden niet zijn beschreven.

De verschillende antibiotica verschillen blijkbaar sterk in de mate waarop ze adsorberen aan de bodemdeeltjes {Boxall A.B.A. et al., 2004}.

De mate van adsorptie ligt niet alleen aan de stofsoort. Ook het soort bodem, de hoeveelheid mineralen, de fractie (organische) koolstof, de zuurgraad en de temperatuur hebben invloed op het adsorptievermogen {Soulides D.A. et al. 1962; Jones A.D. et al., 2005}. De mate van adsorptie wordt uitgedrukt door de bodemwater partiticoëfficiënt (Kd). De Kd-waarde is de verhouding van een stof in de vaste bodemfase en het poriewater. Een hoge Kd-waarde duidt op een sterke adsorptie aan de bodemdeeltjes. Adsorptie aan bodemdeeltjes wordt verder bepaald door de mate waarop antibiotica zich binden aan het organische materiaal in de grond. Dit wordt aangegeven op basis van de op organisch koolstofgehalte genormaliseerde bodemwater partiticoëfficiënt, de Koc. Een hoge Koc-waarde duidt op een sterke binding aan organisch materiaal {Stigt R. van. et al., 1994}. Stoffen met een hoge Koc waarde komen dus minder snel in het grondwater voor.

In tabel 5.2 worden de Kd en Koc waarden weergegeven van sulfonamiden, tetracyclinen, oxytetracycline en sulfamethoxazole.

Antibioticatype	Soort grond pH/Foc %/klei%	Kd ml/g <sup>1</sup>	Koc ml/g <sup>1</sup>	Bron
Tetracyclinen	divers	417-1620		Thiele-Bruhn S., 2003
Sulfonamiden	divers	0.6-4.9		Thiele-Bruhn S., 2003
Sulfamethoxazole	Zeer organisch 4.3/7.1/15.84	37.6	530	Drillia P. et al., 2005 <sup>2</sup>
Sulfamethoxazole	Weinig organisch 6.8/0.37/43.28	0,23	62	Drillia P. et al., 2005 <sup>2</sup>
Oxytetracycline *	Zandig-leemachtig 5.6/1.1/16.9	1026	93320	Rabølle M. et al., 2000
Oxytetracycline	Zandig 5.6/1.4/5.2	670	47880	Rabølle M. et al., 2000
Oxytetracycline	Leemachtig-zandig 6.1/1.6/11.3	680	42500	Rabølle M. et al., 2000
Oxytetracycline	Zandig 6.3/1.5/5.8	417	27790	Rabølle M. et al., 2000

Tabel 5.2 Kd en Koc waarden van tetracyclinen, sulfonamiden, oxytetracycline en sulfamethoxazole. Foc is de fractie organische koolstof

Vanuit de tabel is op te merken dat tetracyclinen sterk aan bodemdeeltjes hechten. Ook Harmscher et al. en Hund-rinke et al. hebben dit aangetoond {Hamscher G. et al., 2002; Hamscher G. et al., 2004, Hund-Rinke K. et al., 2004}.

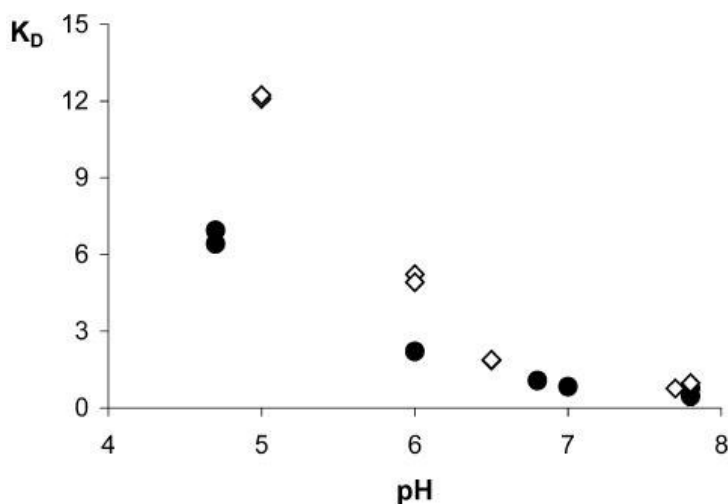
Oxytetracycline hecht ook goed aan organisch materiaal. De hoogste Kd en Koc waarde wordt echter gevonden voor oxytetracycline in een bodem met de laagste fractie organische koolstof (zie\* in tabel 5.2). Dit kan mogelijk worden verklaard door de hoeveelheid klei. Oxytetracycline kan zich namelijk goed binden aan kleideeltjes. De kationuitwisseling en kationbinding aan kleideeltjes hebben hierbij een sterke invloed (zie bijlage III, 3.1 voor uitleg) {Sithole B.B. et al., 1986; Sarmah A.K. et al., 2006; Sukul P. et al., 2006; Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>2</sup>}. Ook in de bodem kunnen tetracyclinen, net als in het lichaam, verbindingen vormen met 2<sup>+</sup> kationen. Een voorbeeld van een 2<sup>+</sup> kation is calcium. Deze stof komt vaak in hoge concentraties voor in de bodem {Samuelson O.B. et al., 1992; Ter Laak T.L. et al., 2006<sup>1</sup>}. In de literatuur zijn naast Koc-gegevens, ook logKoc gegevens gevonden voor oxytetracycline. De adsorptieconstanten voor de bodem zijn bepaald op logKoc 2,8-6 l/kg<sup>-1</sup> {Rabølle M. et al., 2000; Jones A.D. et al., 2005; Ter Laak T.L. et al., 2006<sup>2</sup>; Ter Laak T.L. et al., 2006<sup>3</sup>}. Wanneer de logKoc kleiner is dan 0, komt de stof meer in water voor. Is de logKoc van de stof groter dan 0, dan hecht de stof beter aan de bodem. Dit betekent dus voor oxytetracycline dat het zich beter aan bodemdeeltjes hecht waardoor het minder snel uitloopt naar het grondwater.

Naast de bovenstaande gegevens zijn in tabel 3.1 van bijlage III, 3.2 Kd en Koc waarden weergegeven van oxytetracycline in 30 gronden. In de tabel is te zien dat de diverse mineralen, de zuurgraad, de bodemsoort en de fractie (organische) koolstof invloed hebben op het adsorptievermogen van oxytetracycline aan de bodemdeeltjes. Het wordt echter niet duidelijk wat de precieze invloed is van één bepaalde factor op het adsorptievermogen van oxytetracycline.

In tabel 5.2 is af te lezen dat de sulfonamiden slechter hechten aan bodemdeeltjes, dan de tetracyclinen. Hierdoor verplaatsen deze stoffen zich gemakkelijker naar het grondwater dan de tetracyclinen {Thiele S. et al., 2002, geciteerd door Sukul P. et al., 2006; Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>}.

Behalve de bovengenoemde factoren heeft ook de pH een invloed op de adsorptie van antibiotica aan klei- en bodemdeeltjes. Sithole et al. hebben aangetoond dat de adsorptie van tetracycline aan kleideeltjes verminderd, wanneer de pH groter wordt {Sithole B.B. et al., 1986}. Boxall et al. hebben aangetoond dat wanneer de pH in de grond (kleileem en zandig leem) verhoogd wordt, het adsorptievermogen van sulfachloorpyridazine (een sulfonamide) aan

bodemdeeltjes wordt verminderd (figuur 5.4) {Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>}. Ook Thiele-Bruhn et al. kwamen tot deze conclusie {Thiele-Bruhn S. et al., 2004<sup>2</sup>}.



Figuur 5.4 Het verband tussen de pH en het adsorptievermogen ( $K_d$ ). In dit onderzoek gaat het om de stof sulfachloorpyridazine. De rondjes geven adsorptie in zandig leem aan en de ruitjes geven de adsorptie in kleileem weer. Het figuur is direct overgenomen uit het rapport {Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>}

Thiele-Bruhn et al. hebben onderzocht wat de invloed van mest is op de adsorptie van sulfonamiden in de bodem. Daarbij kwamen ze tot de conclusie dat de mest de bodemadsorptie van sulfonamiden beïnvloedt. Op welke manier dit precies gebeurt, is niet duidelijk. Deze invloed wordt waarschijnlijk vooral uitgeoefend door de pH en de micro-organismen in de mest. Het is echter erg lastig om de exacte invloeden van de mest op de eigenschappen van de antibiotica te onderzoeken omdat er erg veel factoren zijn waar rekening mee moet worden gehouden {Thiele-Bruhn S. et al., 2004<sup>1</sup>}.

#### 5.4.2 Afbraak van antibiotica

De afbraak van antibiotica in de bodem heeft te maken met abiotische en biotische factoren {Sengeløv G. et al., 2003}. Hierbij is de rol van fotolyse sterk achteruit gegaan omdat mest tegenwoordig vooral geïnjecteerd wordt. De fotolyse die plaatsvindt wordt veroorzaakt doordat het kleine (bovenste) gedeelte van de bodem belicht wordt {Thiele-Bruhn, 2003}. De meeste sulfonamiden worden overigens niet direct gedegradeerd door middel van fotolyse {Sukul P. et al., 2006}. Van de tetracyclinen is de mate van fotolyse niet bekend. Naast fotolyse vindt er mogelijk ook hydrolyse plaats. Hierover zijn echter geen onderzoeken gevonden. Degradatie in de bodem heeft verder vooral te maken met biologische activiteiten, waarbij er invloeden zijn van temperatuur, pH en de aanwezigheid van specifieke afbraakbacteriën {Ingerslev F. et al., 2001}. Wanneer het gaat om degradatie, is aerobe afbraak de meest gebruikelijke vorm in het bovenste deel van de bodem. Anaerobe afbraak vindt vooral plaats in het diepere deel van de bodem {Boxall A.B.A. et al., 2004}. Er is geen onderzoek gedaan naar de mate waarop anaerobe of aerobe afbraak plaatsvindt in de bodem.

Er zit veel verschil in de halfwaardetijden van de diverse antibiotica. Deze kunnen verschillen van enkele dagen tot jaren. Zoals de halfwaardetijden voor de diverse groepen antibiotica kunnen verschillen, zit er ook verschil in de halfwaardetijden van de diverse actieve stoffen van een groep {Boxall A.B.A. et al., 2004}.

De halfwaardetijden van de diverse antibiotica in de bodem verschillen sterk van elkaar, omdat er bij de afbraak veel factoren betrokken zijn.

Halfwaardetijden voor de tetracyclingroep in de bodem variëren tussen de 4 en 175 dagen. Van oxytetracyclinehydrochloride werd in een bodem (Nebraska, USA) een halfwaardetijd gevonden van minder dan drie weken. Het totaalgehalte aan afbraakproducten was na vijf maanden echter nog niet afgenomen {Aga D.S. et al., 2005}. Gerapporteerde halfwaardetijden van oxytetracycline in bodemporeiwatervan is 39 dagen {Halling-Sørensen B. et al., 2003}. Van de sulfonamiden is niet bekend wat de halfwaardetijden zijn in de bodem. Er zijn wel onderzoeken gedaan naar de afbreekbaarheid van verschillende sulfonamiden in actief slib. Bij kamertemperatuur werden stoffen afgebroken binnen 10 dagen. Bij 6 °C was de tijd dat stoffen werden afgebroken 12 tot 30 dagen {Ingerslev F. et al., 2000}. Doordat de weersomstandigheden een invloed hebben op de halfwaardetijd, is het van belang om tijdens experimenten onder andere rekening te houden met het tijdstip waarop mest op het land wordt gebracht. Wanneer alleen naar de weersomstandigheden wordt gekeken kan worden geconcludeerd dat de weersomstandigheden waarin het (onder andere) niet regent en waarbij de temperatuur niet "al te hoog" is het meest "gunstig" zijn om antibiotica aan te treffen in de bodem.

## 5.5 Het grondwater

Wanneer de antibiotica en de metabolieten niet goed hechten aan de bodemdeeltjes en ze goed oplosbaar zijn in water, is er de mogelijkheid dat ze in het grondwater terecht komen.

### 5.5.1 Verplaatsing naar het grondwater

Sulfonamiden zijn stoffen waarvan bekend is dat ze niet of weinig aan bodemdeeltjes hechten. Omdat sulfonamiden niet tot weinig aan bodemdeeltjes hechten, is er de mogelijkheid dat deze stoffen zich naar het grondwater verplaatsen {Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>}. De belangrijkste route in de bodem in verband met de verplaatsing van antibiotica naar het grondwater, is via spleten en wormkanalen {Kay P. et al., 2004}. Hierbij is het niet bekend of de deeltjes zijn opgelost in het water.

Een aantal veldstudies hebben aangetoond dat er antibiotica voorkomen in het grondwater {Lindsey M.E. et al., 2001; Campagnolo E.R. et al., 2002; Mackie R.I. et al., 2006; Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>; Hamscher G. et al., 2004}. Zo hebben Campagnolo et al. grondwaterverontreinigingen door antibiotica aangetoond nabij varkensboerderijen. Hierbij zijn onder andere sulfonamiden (als sulfamethiazine) gevonden in lage concentraties (7,6 µg/L). Ook Hamscher, Pawelzick et al. hebben sulfamethazine gevonden in grondwater {Hamscher G. et al., 2004}. Tetracyclinen zijn niet gevonden in het grondwater door Campagnolo, Johnson, et al. {Campagnolo E.R. et al., 2002}. Terwijl MacKie et al. wel tetracyclinen hebben aangetoond in het grondwater. Deze stoffen zijn in het grondwater gevonden als gevolg van het gebruik van varkensmest. Hierbij ging het om erg lage concentraties (0,5 µg/L) {Mackie R.I. et al., 2006}. Tijdens een studie Boxall et al. is duidelijk geworden dat sulfonamiden (sulfachloropyridazine) zich verplaatsen naar het grondwater. Hierbij zijn twee grondsoorten vergeleken (kleileem en zandig leem). Normaal gesproken is er de verwachting dat de concentratie van sulfachloropyridazine in het grondwater van het zandige leem hoger is dan in het kleileem, in verband met het mobiel zijn van sulfachloropyridazine. Dit was echter niet het geval. In het grondwater van het kleileem kwamen meer antibiotica voor. Een mogelijke verklaring is de afbraak/degradatie van antibiotica in het zandige gedeelte {Boxall A.B.A. et al., 2002<sup>1</sup>}.

In de bovenstaande onderzoeken zijn de weersomstandigheden van de dagen voordat er bemonsterd werd vaak niet vermeld. Bij het onderzoeken van antibiotica in het milieu is het

echter belangrijk om de weersomstandigheden te bepalen. Wanneer het bijvoorbeeld regent spoelensommige antibiotica makkelijker uit naar het grondwater. Verder is het vaak ook niet duidelijk om welke grondsoort het gaat, hoeveel mineralen er in de bodem zitten, wat de zuurgraad is, of er aerobe of anaerobe omstandigheden zijn en hoeveel water er in de bodem zit. Deze diverse factoren hebben namelijk gevolgen voor het adsorptievermogen en de mate van mobiel zijn van een stof, waardoor wordt bepaald of een stof al dan niet in het grondwater voorkomt. Van de hogere zandgronden in Nederland is bijvoorbeeld bekend dat ze intensief zijn en worden bemest. Hierdoor zijn de gronden, door kationenuitwisseling, zuur geworden (zie bijlage III, 3.1 voor uitleg). Wanneer er sprake is van een zure grond, is het adsorptievermogen sterker en spoelen antibiotica minder makkelijk uit.

Naast de bovengenoemde factoren is de hoeveelheid antibiotica die zich in de mest bevindt een belangrijke factor. Wanneer er namelijk veel antibiotica worden gebruikt is de kans groter dat antibiotica worden gevonden in de bodem en het grondwater.

Verder kan niet direct worden aangenomen dat de antibiotica die worden gevonden in het grondwater afkomstig zijn van veehouderijen. Dit omdat de diverse antibiotica ook worden gebruikt in de humane en viskwekerijsector {*Christian T. et al., 2003*}. Wanneer een mogelijke bron van uitstoot van humane geneesmiddelen (bijvoorbeeld een rioolwaterzuivering) in de buurt van een agrarisch veld ligt, zullen eventueel aangetroffen gehalten in het grondwater van beide bronnen afkomstig kunnen zijn.

### 5.5.2 Afbraak van antibiotica

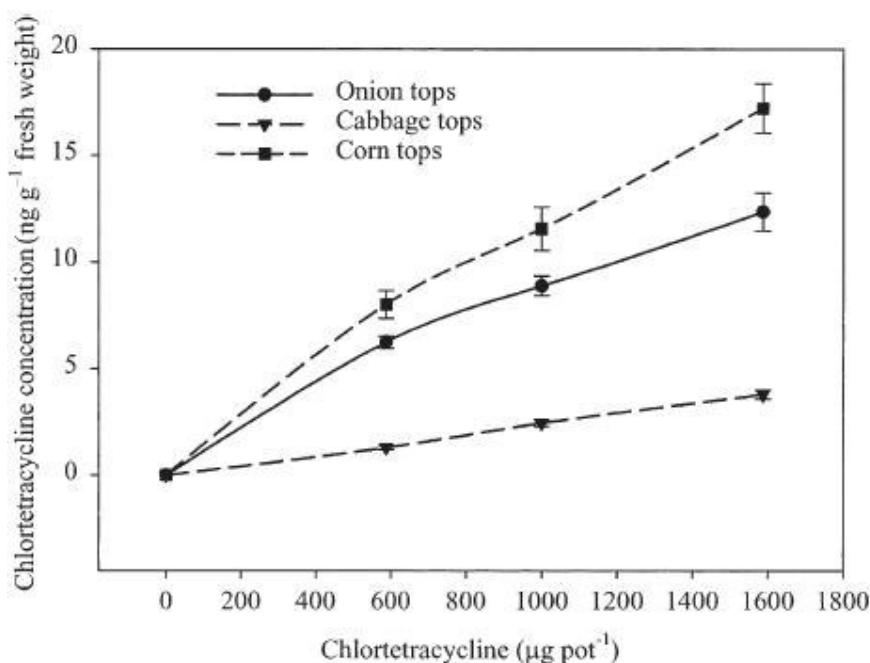
Bij de afbraak van antibiotica in grondwater spelen diverse factoren een rol. Eén van de factoren is bijvoorbeeld de temperatuur. Daarnaast speelt de pH ook een mogelijke rol. Dit is duidelijk geworden door een studie van Loftin et al. Naarmate de temperatuur hoger wordt, vindt er meer degradatie plaats. Dit geldt ook voor de pH, waarbij een hogere pH zorgt voor meer degradatie {*Loftin K.A. et al., 2008*}. Naar de overige factoren, zoals bijvoorbeeld hydrolyse, zijn voor zover bekend geen onderzoeken verricht.

### 5.6 De gewassen

Wanneer antibiotica in of op de bodem komen, kunnen ze worden opgenomen door gewassen. Hierdoor bestaat er de mogelijkheid dat antibiotica in de voedselketen terechtkomen. Het is erg lastig om te bepalen wat de chemische en fysische gedragingen van antibiotica in gewassen zijn omdat hier zeer weinig studies naar zijn gedaan. Voor zover bekend, zijn er geen studies gedaan naar oxytetracycline en sulfamethoxazole in gewassen. Van chloortetracycline zijn wel gegevens bekend. De resultaten zijn hieronder weergegeven.

Door Kumar et al. is aangetoond dat chloortetracycline wordt opgenomen door maïs, groene ui en kool. De gevonden concentraties waren echter erg laag ( $2-17 \text{ ng/g}^{-1}$  vers gewicht), waarbij het ging om normale (wettelijk toegestane) toegevoegde hoeveelheden antibiotica. Naarmate de hoeveelheid toegediende hoeveelheid antibiotica toenam, werd de hoeveelheid antibiotica in de planten ook groter (figuur 5.5) {*Kumar K. et al., 2005*}.





Figuur 5.5 Antibioticaopname door planten. Het figuur is direct overgenomen uit het onderzoek van Kumar et al. {Kumar K. et al., 2005}

Nog een voorbeeld van antibiotica die werden opgenomen door planten is gegeven door Dolliver et al. Zij hebben aangetoond dat sulfamethazine wordt opgenomen in maïs, sla en aardappelen. Hierbij gaat het om concentraties die variëren van 8 tot 100 ng/kg<sup>-1</sup> vers gewicht. Ook in deze studie is duidelijk geworden dat de hoeveelheid antibiotica in planten toeneemt, wanneer de hoeveelheid toegevoegde antibiotica groter wordt {Dolliver H. et al., 2007}.

## 5.7 Conclusie

In dit hoofdstuk is gekeken naar het gedrag en de eigenschappen (adsorptievermogen, de halfwaardetijd, metabolisme, opname en de mobiliteit) van de antibiotica oxytetracycline en sulfamethoxazole in grond en grondwater. Hierbij is vooral de nadruk gelegd op de factoren die het gedrag en de eigenschappen van de antibiotica kunnen beïnvloeden. Waarbij het duidelijk is geworden dat er veel factoren zijn die het gedrag en de eigenschappen van antibiotica kunnen beïnvloeden. Daarnaast hebben deze factoren invloed op elkaar, waardoor de exacte invloed van één bepaalde factor op de eigenschap en het gedrag van een antibioticum moeilijk te bepalen is. In Nederland zijn er weinig (veld-)onderzoeken bekend die het voorkomen van veterinaire antibiotica in het dier, de mest, de bodem en het grondwater hebben onderzocht. Hierdoor zijn vooral buitenlandse studies bekeken. Uit deze onderzoeken kan over het algemeen geconcludeerd worden dat sulfonamiden (ook sulfamethoxazole) sneller uitlogen naar het grondwater dan tetracyclinen. Tetracyclinen (ook oxytetracycline) hechten namelijk beter aan de bodemdeeltjes in vergelijking met de sulfonamiden. Er zijn diverse factoren die een rol spelen in verband met de eigenschappen van de antibiotica. In dit hoofdstuk is naar voren gekomen dat de volgende factoren een invloed hebben op de eigenschappen van de antibiotica:

- Vee:
  - Soorten antibiotica (uitgangssituatie in het lichaam, werkingsmechanismen).



- Diersoort (leeftijd, gewicht, gezondheidssituatie, omstandigheden in het lichaam).
- Toepassingsmogelijkheden.
- Mate van oplosbaarheid.
- De hoeveelheid antibiotica
- Mest:
  - Verschillende abiotische factoren (temperatuur, hoeveelheid water, hoeveelheid licht, zuurgraad en het zuurstofgehalte).
  - Verschillende biotische factoren (bacteriën en micro-organismen).
  - Opslagtijd.
- Bodem:
  - Stofeigenschappen (oplosbaarheid, grootte en de moleculaire structuur).
  - Verschillende abiotische factoren (soort bodem, zuurgraad, fractie organische koolstof, hoeveelheid mineralen, hoeveelheid water, hoeveelheid licht en het zuurstofgehalte).
  - Verschillende biotische factoren (degradatiebacteriën, omzettingbacteriën en micro-organismen).
- Grondwater:
  - De verplaatsing van antibiotica naar het grondwater wordt sterk bepaald door adsorptieprocessen.
  - Daarnaast is de hoeveelheid stof van belang. Wanneer er meer stof wordt gebruikt, is de kans groter dat de stof in het grondwater voorkomt.
  - Verder is het belangrijk hoe de bodemopbouw is. Als in de bodem diverse spleten en wormkanalen zitten, verplaatst de stof zich gemakkelijker naar het grondwater.
  - Tenslotte dient rekening te worden gehouden met andere bronnen waaruit verspreiding naar het grondwater plaatsvindt: het gebruik van dezelfde antibiotica in de humane en de aquasector (bijvoorbeeld de visteelt).
- Gewassen:
  - De hoeveelheid antibiotica die wordt toegevoegd aan de bodem is bepalend voor de hoeveelheid antibiotica die wordt opgenomen in gewassen.

## 6 Effecten van veterinaire antibiotica

Doordat antibiotica verschillende gedragingen hebben, zijn er mogelijk ook diverse effecten. De belangrijkste mogelijke effecten op de diverse milieucompartimenten zijn in dit hoofdstuk beschreven. Hierbij kan het gaan om directe en indirecte effecten {Lahr J., 2004}.

### 6.1 Het vee

Antibiotica zijn gemaakt om infecties met bacteriën en schimmels tegen te gaan. Hierbij kunnen de antibiotica een direct en indirect toxisch effect hebben. Bij een direct effect kunnen de antibiotica bacterieremmend of bacteriedodend zijn. Naast een direct effect speelt er een indirect effect: resistentie. Resistentie ontstaat wanneer bacteriën blootgesteld worden aan subletale hoeveelheden antibiotica {Lahr J., 2007; Rijs G.B.J. et al., 2003}. Hierdoor overleven telkens een aantal bacteriën ("survival of the fittest"). In deze bacteriën verandert het erfelijk materiaal, waardoor ze resistent worden. Verder kunnen bacteriën resistent worden wanneer resistent erfelijk materiaal wordt overgedragen naar een andere bacterie. Hierbij valt bijvoorbeeld te denken aan de overdracht van resistente genen. Dit gebeurt spontaan en willekeurig. Bij het gebruik van antibiotica wordt de kans op selectie van ongevoelige micro-organismen vergroot. Daarnaast wordt de selectiedruk vergroot op normaal aanwezige onschuldige bacteriën (commensalen) in de darmen van dieren. Deze onschuldige bacteriën kunnen mogelijk voor problemen zorgen wanneer zij het eigen erfelijke materiaal met resistentie overdragen naar bacteriën die wel voor problemen zorgen (pathogenen). De resistentie in het vee ontstaat daarbij vooral in de darmen {Stoob K., 2005; Kornalijnslijper J.E. et al., 2008}.

### 6.2 De mest

Antibiotica verblijven een korte tijd in het lichaam, en komen vervolgens – deels en al dan niet gemetaboliseerd - in de feces en/of urine terecht. Naast de antibiotica komen ook diverse (mogelijk resistente) bacteriën in de urine en de feces terecht. Het is erg lastig om de effecten van antibiotica op enkele bacteriën te meten, omdat er veel bacteriesoorten/genotypen zijn (104 tot 105 per gram mest) {Beck L. et al., 2005}. Daarnaast zijn er ook veel factoren waar rekening mee moet worden gehouden. Vandaar dat het meten van bijvoorbeeld resistentie wordt gedaan door middel van groepen bacteriën (gemeenschappen).

Wanneer het gaat om de afbraak van mest, heeft de mestfauna een belangrijke functie. De afbraak van mest kan sterk vertraagd worden als antibiotica negatieve effecten hebben op de ongewervelde dieren in de mest. In een studie van Wall en Strong uit 1987 {Wall R. et al., 1987, geciteerd uit Lahr J., 2007} is aangetoond dat wanneer de organismen in de mest worden aangetast, de afbraak van mest vertraagd kan worden tot wel een jaar {Lahr J. 2007}.

Schmitt et al. hebben aangetoond dat mest een hoge hoeveelheid aan resistentiegenen kan bevatten. Deze genen kunnen, nadat er mest op de bodem is aangebracht, een invloed uitoefenen op de micro-organismen in de bodem {Schmitt H. et al., 2006}.

### 6.3 De bodem

Wanneer antibiotica via de mest in de bodem komen, kunnen zij onder andere effecten hebben op de bodemdieren, bodembacteriën en diverse processen. In de volgende subparagrafen worden de belangrijkste effecten weergegeven.

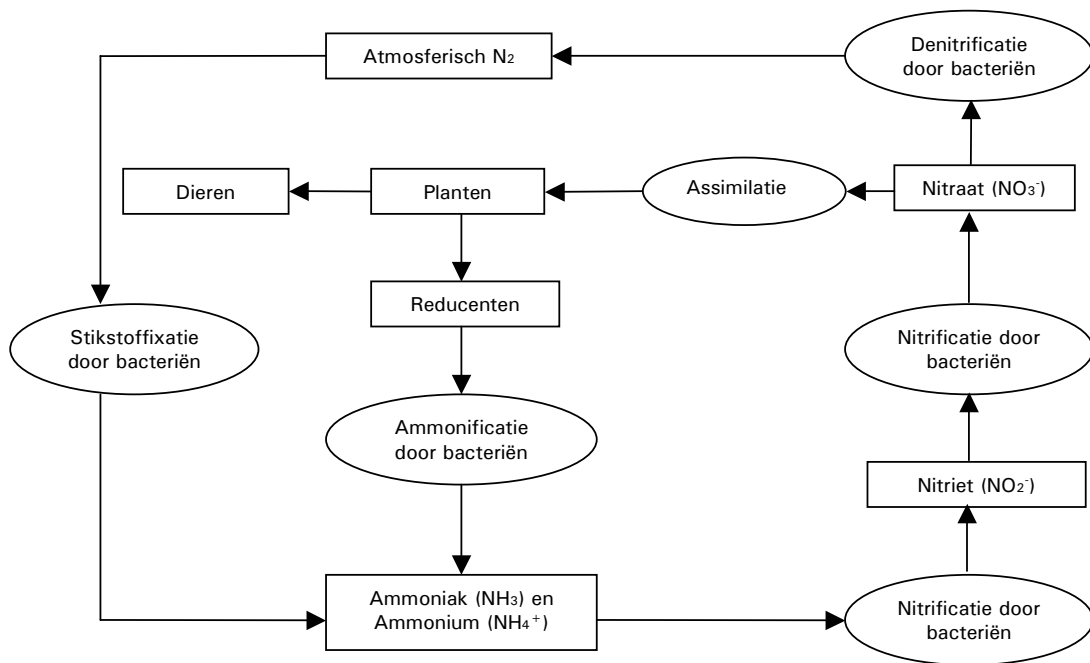
### 6.3.1 Effecten op bodemdieren en bodembacteriën

Veterinaire antibiotica zijn ontworpen om bacteriën en schimmels te doden in dieren. Hierdoor is er de mogelijkheid dat zij dit effect ook hebben op dieren en bacteriën in de bodem. Volgens Boleas et al. heeft oxytetracycline echter vrijwel geen direct effect op de bodemdieren. Het onderzoek geeft wel aan dat er mogelijk indirecte effecten optreden *{Boleas S. et al., 2005}*. In bijlage V is in een toxiciteitstabel te zien dat er vrij veel oxytetracycline toegediend moet worden aan de bodem om een direct effect te veroorzaken op de bodemdieren. Er is echter maar één referentie beschikbaar. Hierdoor is het lastig om een juist beeld te schetsen van de werkelijkheid, omdat hiervoor meer onderzoeken nodig zijn. Deze onderzoeken kunnen dan met elkaar vergeleken worden, waardoor mogelijke fouten makkelijker opgespoord kunnen worden. Van sulfamethoxazole zijn geen acute bodemtoxiciteitgegevens bekend.

Oxytetracycline bleek invloed te hebben op de meeste bodembacteriën. Uit het onderzoek van Schmitt et al. werd duidelijk dat de verdraagzaamheid van een bacteriegemeenschap wordt verdubbeld bij een concentratie van 1,3 mg/kg oxytetracycline. De effecten van oxytetracycline kunnen op kleine schaal echter verschillend uitpakken omdat oxytetracycline sterk aan bodemdeeltjes hecht, waarbij de concentratie aan bodemdeeltjes op diverse plekken verschilt. Hierdoor wordt oxytetracycline niet gelijkmatig over de bodem verdeeld, waardoor aangetaste en niet aangetaste bacteriën naast elkaar kunnen leven *{Schmitt H. et al., 2005<sup>2</sup>}*. Ook in het onderzoek van Thiele-Bruhn et al. werd aangetoond dat antibiotica (onder andere oxytetracycline) een effect hebben op de bodembacteriën *{Thiele-Bruhn S. et al., 2005}*. In een studie van Chander et al. is duidelijk geworden dat tetracyclinen de antimicrobiële activiteiten behouden, wanneer ze aan de bodemdeeltjes zijn gebonden. Als antibiotica zich binden aan bodemdeeltjes en de antimicrobiële activiteiten behouden, kunnen ze een rol spelen in de totstandkoming van resistente bacteriën in de bodem *{Chander Y. et al., 2005}*.

### 6.3.2 Invloed op microbiële processen in de bodem

Anders dan pathogene bacteriën, hebben bodembacteriën belangrijke functies wanneer het bijvoorbeeld gaat om de afbraak van dood materiaal in de grond. Zo zorgen zij ervoor dat de afbraak van dood materiaal bevorderd wordt. Hiermee sluiten ze de natuurlijke kringloop van nutriënten *{Schmitt H., 2005<sup>1</sup>}*. Wanneer antibiotica in de bodem komen, kunnen zij microbiologische processen in de bodem verstoren *{Pramer, 1958}*. Een voorbeeld van een microbiologisch proces wat verstoord kan worden is het nitrificatieproces (zie figuur 6.1). Wanneer de antibiotica een negatieve invloed hebben op nitrificerende bacteriën, kan het nitrificatieproces negatief worden beïnvloed. Als gevolg wordt ammonium niet meer omgezet in nitriet en uiteindelijk niet meer in nitraat. Nitraat is een belangrijke nutriënt voor planten en zonder nitraat groeien planten niet.



Figuur 6.1 Het nitrificatieproces

Met betrekking tot het bovenstaande wordt door Schmitt {Schmitt, 2007} en Schmitt en Römbke {Schmitt en Römbke., 2008} de kanttekening geplaatst dat de invloed van antibiotica op gevoelige bodemprocessen nog onvoldoende zijn onderzocht en dat de huidige methoden nog onvoldoende rekening houden met de piekbelastingen.

### 6.3.3 Resistentie in de bodem

In de bodem kan resistentie voorkomen door in de natuur al aanwezige resistentie (bijvoorbeeld door schimmels), "verontreiniging" door toegevoegde antibiotica en door "besmetting" met resistente bacteriën vanuit bijvoorbeeld de landbouwhuisdieren {Zuidema M. et al., 1993}. Verschillende studies hebben aangetoond dat er resistentie ontstaat onder bodembacteriën bij het verspreiden van mest met antibiotica {Sengeløv G. et al., 2003; Schmitt H., 2005<sup>1</sup>; Schmitt H. et al., 2006; Agersø Y. et al., 2006; Hund-Rinke K. et al., 2004; Dang H. et al., 2007}. In de onderstaande alinea worden de uitkomsten van drie willekeurig gekozen onderzoeken kort weergegeven. Er is voor gekozen om drie willekeurige onderzoeken te bespreken in plaats van allemaal, omdat ze globaal allemaal hetzelfde beeld weergeven.

Sengeløv et al. hebben door middel van een veldonderzoek aangetoond dat het verspreiden van varkensmest kan leiden tot resistentie van bodembacteriën tegen tetracycline. Verder kan uit deze studie worden aangenomen dat wanneer er meer mest op het land uitgereden wordt, de resistentie tegen tetracycline in de bodem toeneemt {Sengeløv G. et al., 2003}. Het is echter niet duidelijk wat de drempelconcentratie is van oxytetracycline en sulfamethoxazole om resistentie te kunnen veroorzaken. Tijdens een onderzoek van Schmitt et al. is onderzocht wat de invloed van mest (met antibiotica) was op de bodem. In dit onderzoek werden, voordat er bemest was, de tetracycline resistentiegenen *tet(T)*, *tet(W)* en *tet(Z)* in de bodem gevonden. Dit is opmerkelijk omdat er nog niet bemest was. Een mogelijke verklaring is dat in de bodem ook van oorsprong natuurlijke resistentiegenen voorkomen. Na het bemesten kwamen daar de resistentiegenen *tet(Y)*, *tet(S)*, *tet(C)*, *tet(Q)* en *tet(H)* bij. Tijdens een agrarisch veldonderzoek in

Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducares, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond

Zweden werd een hoge hoeveelheid aan sulfonamide resistentiegenen *sul(1)*, *sul(2)* en *sul(3)* gevonden in de bodem. Ook hierbij gaat het mogelijk om resistentiegenen van natuurlijke oorsprong omdat de onderzochte bodem in geen jaren bemest is geweest. De bovenstaande onderzoeken van Schmitt et al. hebben aangetoond dat de bodem mogelijk een reservoir van resistentiegenen bevat. Het is echter niet duidelijk of deze resistentiegenen in de bodem zijn gekomen door bijvoorbeeld 50 jaar bemesting of dat de oorsprong overwegend natuurlijk is {Schmitt H., 2005<sup>1</sup>; Schmitt H. et al., 2006}.

Resistentievorming in de bodem lijkt door een aantal factoren te worden beïnvloed. Zo komen resistente genen/bacteriën samen met antibiotica via de mest in de bodem terecht. Wanneer er meer nutriënten via de mest in de bodem terechtkomen, wordt de activiteit van de bacteriën in de bodem verhoogd. Hierdoor kan er een betere uitwisseling van erfelijk materiaal plaatsvinden tussen de micro-organismen. Belangrijke plekken voor de uitwisseling van erfelijk materiaal is het wortelmilieu en de met mest verrijkte bodems {Séveno N.A. et al., 2002 en Sengeløv G. et al., 2003, geciteerd door Lahr J. 2007}. Ook koper heeft een invloed. Zo is in een studie van Berg, Tom-Petersen et al. een verhoging van resistente bacteriën gevonden, nadat koper in de bodem werd gebracht. Hierdoor wordt de suggestie gewekt dat de introductie van koper in de bodem, indirect de milieuselectie van antibioticaresistentie beïnvloed {Berg J. et al., 2004}.

#### 6.4 Het grondwater

Er zijn geen onderzoeken bekend in verband met de effecten van antibiotica en/of de metabolieten in het grondwater. Er zijn echter wel, naast antibiotica, antibioticaresistentiegenen aangetoond in het grondwater.

Door MacKie et al. zijn resistentiegenen aangetoond in grondwater. Hierbij ging het om tetracyclinegenen. Van de tetracyclinegenen zijn vier algemeen voorkomende tetracycline (*tet*) resistentiegenen gevonden. Hierbij ging het om *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(Q)* en *tet(W)*. Nabij de boerderij werden meer resistentiegenen gevonden dan in het overige gebied {MacKie R.I. et al., 2006}. Door Chee-sanford et al. is het voorkomen en de diversiteit van de tetracycline resistentiegenen in onder andere het grondwater onder twee varkensveehouderijen onderzocht. Zij hebben ook tetracycline resistentiegenen gevonden in het grondwater {Chee-Sanford J.C et al., 2001}. Ook tijdens een 3 jarig onderzoek van Koike et al. werden continu tetracycline resistentiegenen gevonden in het grondwater nabij varkenshouderijen {Koike S. et al., 2007}. Tijdens de bovenstaande Amerikaanse experimenten is de mest opgeslagen in lagunes. De lagunes kunnen aan de onderkant zijn afgesloten of in contact staan met de bodem, waardoor er verschillende hoeveelheden antibiotica in de grond terecht kunnen komen. Uit de studies komt niet naar voren of er sprake is van een open of gesloten lagune. In Nederland worden vaak mestkelders gebruikt. Hierdoor zijn de gegevens uit Amerika niet direct toepasbaar op de Nederlandse situatie.

#### 6.5 De gewassen

Antibiotica kunnen effecten hebben op de groei van gewassen. Hierbij kan onder andere gedacht worden aan de invloed van antibiotica op microbiële processen in de bodem, zoals eerder is aangegeven in paragraaf 6.3.2.

Batchelder heeft onderzoek gedaan naar de invloed van onder andere oxytetracycline op de groei van onder andere maïs, tarwe en pinto bonen. Pinto bonen werden negatief belast door oxytetracycline. Onder andere het verse gewicht en de opname van calcium, kalium en magnesium was achteruitgegaan. Op tarwe en maïs werden geen effecten aangetoond {Batchelder A.R., 1982}. In een onderzoek van Patten, Wolf et al. werden ook geen effecten

waargenomen van oxytetracycline op de plantengroei van onder andere maïs {Patten D.K. et al., 1980}. Onduidelijk is waarom pinto bonen meer belast worden (mogelijk als gevolg van de wortelknolletjes?). Door de twee bovenstaande studies wordt de suggestie gewekt, dat de effecten op planten verschillen per type plant en mogelijk per type bodem. De mobiliteit en het adsorptievermogen van antibiotica in de bodem heeft namelijk ook invloed op de mate van beschikbaarheid van de antibiotica voor de microbiële processen. De hoeveelheid beschikbare stof (antibiotica) bepaalt hierdoor onder andere indirect hoeveel de plant groeit<sup>1</sup> en hoeveel stof de plant opneemt.

## 6.6 Conclusie

Dierlijke antibiotica zijn ontwikkeld om schimmel- en bacterie-infecties in dieren tegen te gaan. Deze werking kunnen ze echter doorzetten in de mest, de bodem en het grondwater. Hierbij is er sprake van een direct en indirect effect.

De antibiotica hebben een acuut toxisch effect op de bacteriën en schimmels in het vee, de mest en de bodem. Het directe effect op de "grotere" bodemdieren (terrestrische evertibraten), zoals de aardworm, is echter nihil. Hierdoor is de kans dat er directe effecten zijn op hogere (dierlijke) organismen ook niet of nauwelijks aanwezig, omdat daarvoor de toegevoegde hoeveelheden antibiotica te laag zijn. De mate van accumulatie in de bodem en de organismen is hierbij niet meegenomen omdat hier geen studies over gevonden zijn. Wanneer antibiotica accumuleren in organismen kan ook doorvergiftiging optreden.

Een ander effect van antibiotica is de vorming van resistentie. Dit indirecte effect treedt op omdat er subletale hoeveelheden antibiotica in het milieu komen. Tijdens het doornemen van diverse rapporten is het duidelijk geworden dat er resistentiegenen zijn gevonden in de bodem en het grondwater. Deze resistentiegenen kunnen negatieve effecten veroorzaken als pathogene bacteriën, door de overdracht van deze genen, resistent worden. Hoe groot de diverse risico's zijn, wordt verder besproken in het hoofdstuk 8.

---

<sup>1</sup> Hoe groter de hoeveelheid beschikbare antibiotica in de bodem is, des te meer worden de microbiologische processen negatief beïnvloed (er gaan bijvoorbeeld bacteriën dood). Hierdoor zijn er minder nutriënten beschikbaar, waardoor de plant minder hard groeit

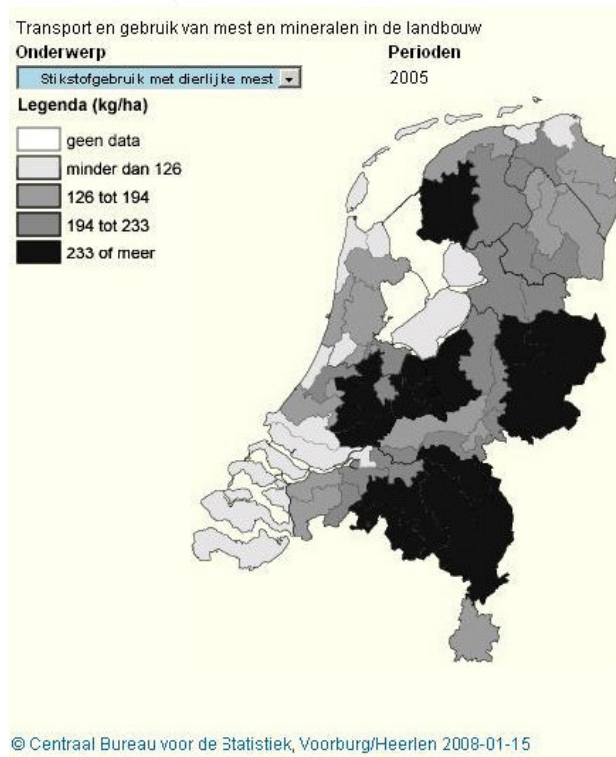
## 7 Verspreiding van veterinaire antibiotica in het milieu

In dit hoofdstuk wordt besproken hoeveel en waar de mest in Nederland voornamelijk verspreid wordt. Hierbij is gekeken naar de drie belangrijkste producenten van mest: runderen, varkens en pluimvee (kippen). Wanneer mest op het land verspreid wordt, geldt de mestwetgeving {LNV, 2006}. Deze wetgeving stelt voorwaarden aan de hoeveelheden dierlijke mest per jaar op basis van de stikstofbelasting en aan de periode waarin dierlijke mest gegeven mag worden. Eerst wordt de verspreiding besproken van dierlijke mest op graslanden en dan die op akkers. Er wordt onderscheid gemaakt naar mest van verschillende diergroepen, omdat deze in verschillende mate diergeneesmiddelen krijgen (zie voorgaand hoofdstuk).

Dit hoofdstuk is voor een groot deel gebaseerd op het rapport "Potentiële effecten van diergeneesmiddelen op het terrestrische milieu in Nederland, van het CML in Leiden {Universiteit Leiden, 2008}.

### 7.1 Transport van mest en het gebruik van mineralen in de landbouw

Een belangrijke informatiebron zijn de mestgegevens van CBS. In deze CBS-gegevens zijn de gegevens opgenomen over de N-belasting door dierlijke mest voor cultuurgronden voor heel Nederland (Figuur 7.1).



Figuur 7.1: N-belasting met dierlijke mest in Nederland; indeling in 66 landbouwgebieden {CBS 2008}



In deze CBS gegevens is geen onderscheid gemaakt tussen bouwland en grasland en tussen mest van verschillende diergroepen. Uit dit figuur wordt duidelijk dat in een aantal akkerbouwregio's in het oosten, zuiden en midden van het land veel dierlijke mest wordt toegepast. Verder wordt ook in de graslandregio's in het westen van Friesland en het oosten van Zuid-Holland veel dierlijke mest toegepast.

## 7.2 Gebruik van dierlijke mest op graslanden

In Nederland worden graslanden vooral gebruikt voor begrazing met melkkoeien. Hiervoor kunnen drie typen beweiding worden onderscheiden:

1. dag- en nachtbeweiding: winterhalfjaar in de stal en zomerhalfjaar dag en nacht buiten;
2. dagbeweiding: winterhalfjaar in de stal, zomerhalfjaar buiten, 's nachts binnen;
3. geen beweiding: het gehele jaar in de stal.

Op zandgronden is er meer dagbeweiding. Hier wordt ook veel snijmaïs geteeld (gemengde bedrijven), waardoor de melkveehouderijen ook een hogere veebezetting kunnen hebben dan op klei- of veengronden.

Wanneer het vee op stal staat, wordt de mest opgeslagen in mestkelders. Zodra deze opslag vol is, wordt de drijfmest verspreid over het land in de periode wanneer dat is toegestaan (1 februari tot en met 15 september) en tot een maximum dat is toegestaan (170 kg N/ha, onder bepaalde omstandigheden 250 kg N/ha). Op graslanden wordt vrijwel altijd drijfmest van het eigen bedrijf gebruikt. Een eventueel overschot binnen een bedrijf wordt vaak gebruikt voor eigen akkerbouwpercelen. Hierop wordt maïs geteeld voor veevoer. De meeste mest wordt gebruikt wanneer het gras begint te groeien (april-mei). Een maximale gift is ongeveer 20-25 m<sup>3</sup> per ha, wat overeenkomt met ongeveer 80-110 kg N.

## 7.3 Gebruik van dierlijke mest op akkers

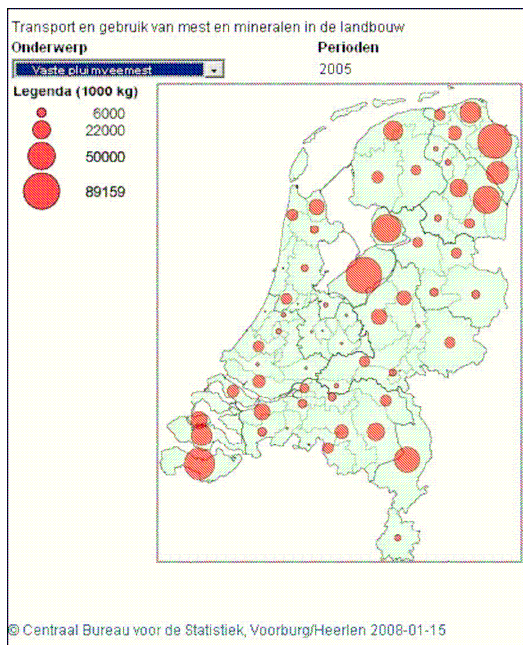
De toepassing van dierlijke mest op akkers gebeurt voordat een gewas wordt ingezaaid of tijdens het vroege gewasstadium, i.v.m. de onderwerkplicht van de dierlijke mest. Hierdoor is er eenmalig in het voorjaar een gift mogelijk. Vroege gewassen, zoals biet, krijgen mest in februari-maart. Late gewassen, zoals maïs, krijgen mest in april.

Als er op een akker mest wordt gebruikt, dan is dat over het algemeen maar één type mest: runder- of varkens- of pluimveemest. Ook voor de bemesting van akkers geldt de Meststoffenwet {LNV, 2006}. Voor akkers geldt een maximale gift van 170 kg N/ha per jaar, waarbij alleen in het groeiseizoen en niet in de herfst en de winter mest mag worden gegeven. De manier waarop mest in de bodem wordt verwerkt en de mate waarin menging met de bodem plaatsvindt, hangt af van de bodemsoort en het gewas. Als wordt uitgegaan van een maximale gift van 170 kg N per hectare in het voorjaar, dan komt dat neer op (op basis van de forfaitaire stikstof- en fosfaatgehalten in dierlijke mest {LNV, 2008}):

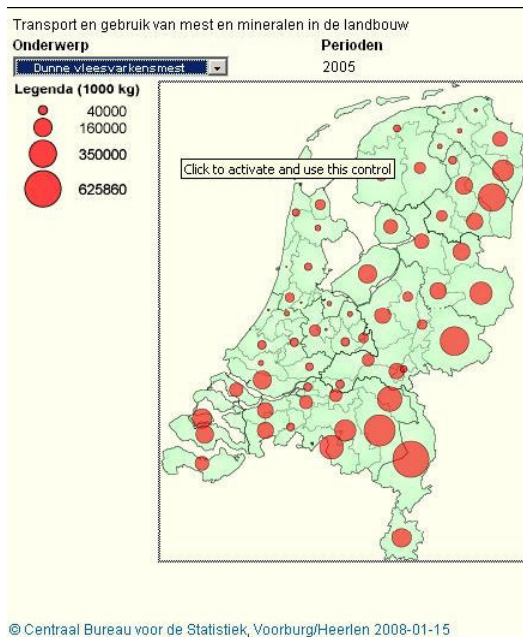
- drijfmest rundvee: ongeveer 37 ton mest/ha per jaar (uitgaande van 4,5 kg stikstof per ton);
- drijfmest vleesvarkens: 25 ton mest/ha per jaar (uitgaande van 7,0 kg stikstof per ton);
- kippenmest: 4.7 ton mest/ha per jaar (uitgaande van 36 kg stikstof per ton).

In de figuren 7.2 en 7.3 zijn de mestgiften weergegeven in verschillende landbouwgebieden in Nederland voor vaste kippenmest (dunne kippenmest is veel minder belangrijk) en dunne vleesvarkensmest (fokvarkensmest is ook belangrijk maar geeft ongeveer hetzelfde beeld). Hierbij is geen onderscheid gemaakt naar verschillende typen cultuurgronden en is geen rekening gehouden met verschillen in grootte van het gebied.





Figuur 7.2: Het gebruik van vaste pluimveemest in 2005 in verschillende gebieden in Nederland, CBS (20082).



Figuur 7.3: Het gebruik van dunne vleesvarkensmest in 2005 in verschillende gebieden in Nederland, CBS (20082).

## 8 Risico-evaluatie

Uit hoofdstuk 6 is duidelijk geworden dat antibiotica directe of indirecte effecten kunnen hebben op bacteriën, bodemdieren, bodemprocessen en gewassen. Wanneer antibiotica in voldoende hoge concentraties in het milieu terecht komen kunnen zij eventueel risico's (zie bijlage 4 voor de definitie) veroorzaken. Vanuit de mogelijke effecten in samenhang met de kans dat de mogelijke effecten kunnen voorkomen, kan een mogelijk risico worden opgesteld. Een risico wordt over het algemeen beschreven als de omvang van een bedreiging en de kans dat deze bedreiging voorkomt (risico = kans x bedreiging).

In dit hoofdstuk wordt het risico besproken in verband met het gebruik van veterinaire antibiotica in de intensieve veehouderij. Gezien de beperkt beschikbare gegevens is slechts een eerste, indicatieve risicoschatting te maken.

### 8.1 Milieurisico's

#### 8.1.1 Hoeveelheid actieve stof in de bodem (voor vleesvarkens)

Als enerzijds bekend is waar en wanneer hoeveel dierlijke mest op graslanden en akkers wordt gebruikt en anderzijds hoeveel diergeneesmiddelen er per dier worden toegepast, is de belasting met diergeneesmiddelen van het terrestrische milieu indicatief te berekenen. Onderstaand wordt berekend hoeveel oxytetracycline via het vleesvarken (als voorbeeld), mogelijk in de bodem terecht komt (predicted environmental concentration, PEC). Hierbij moet wel vermeld worden dat dit om een zeer grove berekening gaat. De berekende gegevens worden daarna met de diverse onderzoeksresultaten vergeleken, om te bepalen of er sprake is van een blootstellingrisico.

Tabel 8.1 PEC voor oxytetracycline via vleesvarken

Parameter (per vleesvarken)		Bron
Gemiddeld gewicht (BW)	110 kg	{Blackwell et al., 2005}
Dosis (D)	20 mg/kg	{Blackwell et al., 2005}
Aantal behandelingen (T)	10	{Blackwell et al., 2005}
Jaarlijkse output van mest (1 dier) (H)	1200 kg/jaar	{CBS, 2008}
Fractie onveranderde stof (F)	20% = 0,2	{Jemba, 2002}
Injectiediepte (ID)	Ongeveer 10 cm	{Boxall A.B.A., 2002}
Dichtheid zandgrond 93% zand, 5% klei, 2% silt. Volgens Canadees systeem (δ)	1710 kg/m <sup>3</sup>	{Pedosphere, 2002}

Tabel 8.1 Data in verband met behandelingsscenario's voor een vleesvarken met oxytetracycline

Bij de bepaling van PEC van oxytetracycline in de bodem, is het eerst nodig om de PEC van de oxytetracycline in de mest te berekenen. Dit wordt gedaan met de volgende formule (zie tabel 8.1 voor de gegevens) {Blackwell P.A et al., 2005}:

$$PEC_{\text{mest}} = \frac{(D \times BW \times T \times F)}{H} = \frac{(20 \times 110 \times 10 \times 0,2)}{1200} = 3,6 \text{ mg/kg/dier/jaar}$$

Nadat de PEC in de mest is bepaald, kan de PEC in de bodem worden bepaald.

Om de PEC in de bodem te bepalen moet eerst de hoeveelheid mest die per ha mag worden uitgereden berekend worden {WRc-NSF, 2000: aangepast}:

Excretie<sub>max</sub> (op basis van de stikstofnorm, zie hoofdstuk 7) = 25.000 kg mest/ha per jaar.

De hoeveelheid onveranderde oxytetracycline die in de bodem terechtkomt is {Blackwell P.A et al., 2005}:

$$PEC_{\text{bodem}} = \frac{(\text{Excretie}_{\text{max}} \times PEC_{\text{mest}})}{(100 \times \text{ID} \times \delta) + \text{Excretie}_{\text{max}}} = \frac{(25000 \times 3,6)}{(100 \times 10 \times 1710) + 25000} = 0,05 \text{ mg/kg}$$

$$\text{Wanneer de Toxiciteits Blootstelling Ratio (TBR) } \frac{\text{Letale Concentratie (LC) (mg/kg)}{\text{PEC (mg/kg)}} = < 1, \text{ is er}$$

sprake van blootstelling waarbij zeker een deel van de populatie overlijdt.

### 8.1.2 Acute toxiciteit

Met acute toxiciteit wordt bedoeld: binnen een korte tijd (vaak 48 uur), een direct negatief effect van antibiotica op een bepaald organisme. Er zijn, in vergelijking met de acute toxiciteitstesten in het aquatisch milieu, weinig bodem toxiciteitstesten gedaan. Voor sulfamethoxazole zijn er, wanneer in de openbare literatuur wordt gekeken, geen acute toxiciteitstesten op bodemdieren bekend.

De onderzoeksgegevens uit deze paragraaf worden vergeleken met de berekende gegevens uit de bovenstaande paragraaf. Hierdoor kan bepaald worden of er sprake is van een blootstellingsrisico.

#### Klassieke bodemtesten

Klassieke bodemtesten worden uitgevoerd op regenwormen, enchytraeidae en springstaarten. Volgens de toxiciteitstabel uit bijlage 5 moet er veel (LC50 >2700 mg/kg) oxytetracycline worden toegevoegd voordat er negatieve effecten optreden op een bodemorganisme. Hierdoor is het zeer onwaarschijnlijk dat de hoeveelheid oxytetracycline, zoals deze berekend is (PEC<sub>bodem</sub>), directe consequenties heeft voor de bodemorganismen.

$$\text{Er is namelijk een TBR van } \frac{2700}{0,05} = 54000 \text{ berekend.}$$

Hierbij is er geen blootstellingsrisico te verwachten

#### Microbiële gemeenschappen

Gelet het doel van antibiotica zijn wel direct toxische effecten te verwachten op microbiële gemeenschappen in de bodem. Colinas et al. hebben aangetoond dat een mix van oxytetracycline en penicilline de hoeveelheid actieve bacteriën in een bosbodem bij een concentratie van 10 mg/kg vermindert {Colinas C. et al. 1994 geciteerd door Schmitt H. et al. 2005<sup>2</sup>}. Thiele en Beck hebben aangetoond dat oxytetracycline de respiratie van bacteriegemeenschappen reduceert met 10% bij een concentratie van 0,810 mg/kg {Thiele S. et al., 2001, geciteerd door Schmitt H. et al. 2005<sup>2</sup>}. Boleas et al. hebben effecten van oxytetracycline aangetoond in "multispecies soil systems". Bij een concentratie van 0,01 en 1 mg/kg werd onder andere de basale ademhaling beïnvloed {Boleas S. et al., 2003, geciteerd door Schmitt H. et al. 2005<sup>2</sup>}.

Op basis van de bovenstaande resultaten kan worden aangegeven dat oxytetracycline mogelijk wel directe consequenties heeft op microbiële gemeenschappen. Vanuit de bovenstaande resultaten

wordt namelijk een TBR berekend die tussen de  $\frac{0,01}{0,065} = 0,2$  en  $\frac{10}{0,05} = 200$  ligt.

### 8.1.3 Doorvergiftiging

Antibiotica kunnen mogelijk doorvergiftiging veroorzaken als gevolg van bioaccumulatie. De ophoping van antibiotica vindt plaats wanneer meer stoffen worden ingenomen dan dat er stoffen worden uitgescheiden. De ophoping van stoffen heeft onder andere te maken met de halfwaardetijd. Wanneer stoffen een lange halfwaardetijd hebben, worden ze langzaam afgebroken. Ook is de mate van accumulatie belangrijk. Stoffen met bijvoorbeeld een lipofiel karakter kunnen makkelijk bioaccumuleren in het vetweefsel. De mate waarin een stof in een organisme accumuleert, wordt weergegeven door de bioconcentratiefactor (BCF). In de literatuur zijn geen BCF's gevonden voor oxytetracycline en sulfamethoxazole. Wel is in paragraaf 5.6 aangegeven dat er in studies is aangetoond dat antibiotica zijn gevonden in gewassen. De gevonden concentraties zijn echter laag (tot  $100 \text{ ng/kg}^{-1}$ ), waardoor de kans dat er een direct effect optreedt op organismen ook laag is.

### 8.1.4 Antibiotica in drinkwater (vanuit grondwater)

In Nederland zijn er weinig onderzoeken bekend in verband met het voorkomen van veterinaire antibiotica in het drinkwater. Het is namelijk erg lastig om te bepalen of de antibiotica die worden gevonden in het drinkwater afkomstig is van de veehouderijen omdat er ook andere bronnen zijn die invloed kunnen uitoefenen (humaan en aquacultuur).

In het onderzoek van onder andere het RIVM zijn oxytetracycline en sulfamethoxazole in zeer lage concentraties gevonden in het drinkwater ( $< 20 \text{ ng/L}$ ) {Versteegh J.F.M. et al., 2003}. Ook Ye en Weinberg hebben concentraties oxytetracycline en sulfamethoxazole gevonden van  $< 20 \text{ ng/L}$  {Ye Z. et al., 2004}. De gevonden concentraties zijn erg laag, waardoor er geen directe risico's zijn voor bijvoorbeeld hogere organismen (bijvoorbeeld mensen) in verband met sulfamethoxazole en oxytetracycline in het drinkwater. De marge tussen de maximaal therapeutische dosis en de aangetoonde concentraties in drinkwater is zeer groot (factor  $10^6$ ) {Gezondheidsraad, 2001}.

### 8.1.5 Resistentieontwikkeling

Resistentieontwikkeling is een onderwerp waar veel onderzoek naar gedaan wordt. Hierbij bestaat een grote ongerustheid over het voorkomen van resistentiegenen in het milieu en de mogelijke gevolgen voor de volksgezondheid. Dit wordt duidelijk door de grote hoeveelheid wetenschappelijke experimenten, literatuur en reviews die te verkrijgen zijn in verband met resistentie in het milieu. Deze documenten zijn niet allemaal doorgenomen. Er zijn vooral reviews bekeken, waarin de verschillende documenten diverse malen benoemd zijn. Hierdoor wordt een mate van kwaliteitsborging verkregen. Wanneer de diverse documenten namelijk vaker zijn benoemd in de reviews, kan worden geconcludeerd dat ze relatief betrouwbaar zijn. {Kornalijnslijper J.E. et al., 2008; Kemper N., 2007; Davis M.A. et al., 2007; Srinivasan V. et al., 2006; Sarmah A.K. et al., 2006; MARAN, 2007; Stoob K. et al. 2005; Wassenaar T.M., 2005}. De voornoemde auteurs zijn het allemaal eens met de conclusie, dat door het gebruik van antibiotica in de veeteelt resistente bacteriestammen in landbouwhuisdieren ontstaan en dat deze worden uitgescheiden in het milieu. Resistentieontwikkeling kan optreden bij lage concentraties antibiotica {Gezondheidsraad, 2001}, waarbij de drempelconcentratie niet duidelijk is. Uit de berekening van paragraaf 8.1.1. is gebleken dat er relatief lage concentraties

van antibiotica in het milieu terechtkomen. Bij deze concentratie sterven niet alle bacteriën, waardoor er resistentie kan ontstaan. Het resistent worden van bacteriën is een probleem wanneer:

- Niet-pathogene resistente bacteriën resistentie overdragen aan voor de mens pathogene bacteriën.
- Voor de mens en het dier pathogene bacteriën resistent worden.
- Kruisresistentie en multiresistentie ontwikkeld wordt tegen geneesmiddelen die van belang zijn in de gezondheidszorg.

In een aantal studies wordt aangegeven dat er een toegenomen resistentie is van humane pathogenen, zoals *Salmonella* (kader 8.1), *Campylobacter* (kader 8.2) en *Meticilline Resistente Staphylococcus Aureus* (MRSA) bacteriën (kader 8.3) {Kemper N., 2007; Norström M. et al., 2006; MARAN, 2007}.

**Kader 8.1** *Salmonella* is een bacterie die bij de mens voornamelijk diarree veroorzaakt. In ernstige gevallen kan longontsteking, gewrichtsontsteking, nierfalen, bloedvergiftiging en shock optreden. *Salmonella* is mogelijk resistent tegen diverse tetracyclinen en sulfonamiden. {Kemper N., 2007}

**Kader 8.2** *Campylobacter* is een bacterie die bij de mens voornamelijk acute, waterige en soms bloederige diarree met heftige buikkrampen en koorts veroorzaakt. *Campylobacter* is mogelijk resistent tegen diverse tetracyclinen en sulfamethoxazole. {Kemper N., 2007}

**Kader 8.3** MRSA is een bacterie waarvan bekend is dat die ongevoelig is voor de meeste antibiotica. Hierdoor is deze lastig te bestrijden. Voor mensen met een ernstig verminderde weerstand is de bacterie vooral gevaarlijk. {Hago, 2004}

De hoeveelheid multiresistente bacteriën bij vleeskalveren, varkens en vleeskuikens neemt toe. Mensen kunnen geïnfecteerd worden met resistente bacteriën via voedsel of het bereiden van besmette dierlijke producten. Daarnaast kan direct contact met besmette dieren of hun omgeving leiden tot besmetting. De laatste jaren is er bijvoorbeeld veel aandacht geweest voor MRSA in relatie tot de varkenshouderijen {Kornalijslijper J.E. et al., 2008}.

Er komen diverse stafylokokken (bacteriën) voor bij gezonde mensen, zonder dat er problemen zijn. MRSA is echter een bijzondere stafylokok omdat hij ongevoelig is voor de meeste antibiotica. In Nederland komt MRSA onder mensen relatief weinig voor in vergelijking met andere landen. Door het gebruik van antibiotica kan het aantal gevallen met MRSA in de toekomst toenemen. Het MRSA-dragerschap vormt geen grote bedreiging voor de mensen die op een veehouderij werken, vaak merken zij er niets van {Kornalijslijper J.E. et al., 2008}. Wanneer deze mensen echter worden opgenomen in een ziekenhuis kunnen er problemen ontstaan omdat er mogelijk resistente genen worden overdragen op pathogene bacteriën in andere mensen.

## 8.2 Conclusie

Uit de gegevens die zijn gevonden is te concluderen dat er geen acuut toxiciteitseffect op de bodemdieren te verwachten is, wanneer er normale hoeveelheden antibiotica worden gebruikt. Met normaal wordt hierbij bedoeld: hoeveelheden die in de veterinaire sector per stuk vee worden gebruikt. De hoeveelheid antibiotica die in de veehouderij wordt gebruikt kunnen echter wel effect hebben op de bodembacteriën. Doordat bodembacteriën negatief beïnvloed worden, is er de mogelijkheid dat bodemprocessen minder goed werken. Een voorbeeld van een bodemproces is het afbraakproces. Wanneer het afbraakproces minder goed werkt, wordt de mest minder goed omgezet. Hierdoor kan er eventueel vervuiling door nutriënten ontstaan (teveel nutriënten in de bodem/grondwater). De antibiotica hebben ook geen directe gevolgen voor de volksgezondheid (factor  $10^6$  verschil).



Het grootste risico wat kan ontstaan bij het gebruik van antibiotica in de intensieve veehouderij, is het ontstaan van resistentie. Resistentie ontstaat, wanneer subletale hoeveelheden antibiotica worden gebruikt. In paragraaf 8.1.1. is duidelijk geworden dat door het gebruik van antibiotica in de intensieve veehouderij subletale hoeveelheden antibiotica op de bodem terecht komen. Wanneer er resistente genen worden overgedragen op voor de mens pathogene bacteriën, kunnen er problemen ontstaan. Deze pathogene bacteriën kunnen ziekten verwekken. Normaal gesproken werden er antibiotica gebruikt om deze ziekteverwekkers tegen te gaan. Nu deze ziekteverwekkers resistent zijn geworden, kunnen de antibiotica niet meer worden gebruikt. Er is dus sprake van een potentieel risico voor de volksgezondheid. De risicobeoordeling is louter indicatief omdat er te weinig gegevens voorhanden zijn om betrouwbaarder uitspraken te doen.

## 9 Conclusies

Dit literatuuronderzoek geeft een beeld weer van de wetgeving, de gedragingen, de mogelijke effecten en de mogelijke risico's van veterinaire antibiotica in de grond en het grondwater. In het eerste deel van deze conclusie wordt antwoord gegeven op de van tevoren opgestelde onderzoeksvraag, waarna in het tweede deel kennislacunes worden weergegeven. De kennislacunes vormen een basis voor de aanbevelingen.

Er zijn veel factoren die invloed uitoefenen op de eigenschappen van een toegestaan veterinair antibioticum. Allereerst is er het wettelijk kader, dat is onder te verdelen in de product- en de kwaliteitsregelgeving. In de productregelgeving wordt gereguleerd waar antibiotica aan moeten voldoen. Zo moet er bijvoorbeeld een milieubeoordeling plaatsvinden waarin onderzocht wordt of een antibioticum geen negatieve effecten heeft op of in het milieu. Wanneer een antibioticum negatieve effecten heeft wordt geen vergunning afgegeven. Onduidelijk is of resistentie tijdens de milieubeoordeling wordt onderzocht. Naast de productregelgeving is er de kwaliteitsregelgeving. In de kwaliteitswetgeving worden antibiotica niet direct gereguleerd. Er zijn bijvoorbeeld geen normen opgesteld voor antibiotica in de bodem en het grondwater. Wel geldt er een zorgplichtbepaling die aangeeft dat verontreinigingen in de bodem waar de mens en het milieu schade van ondervinden, tegen moeten worden gegaan. Opmerkelijk is dat de Nitraatrichtlijn als belangrijkste richtlijn wordt gezien op Europees niveau, wanneer het gaat om mest in de bodem en het grondwater. De Nitraatrichtlijn is op stofniveau namelijk alleen gericht op nitraat, waardoor de andere stoffen in de mest te weinig/geen aandacht krijgen.

Naast de indirecte invloed van het wettelijk kader zijn er veel overige (biotische en a-biotische) factoren die een invloed uitoefenen op het voorkomen van antibiotica in de grond en het grondwater. Hierdoor is het lastig om de mogelijke invloed van één specifieke factor te onderscheiden en te bepalen. In de intensieve veehouderij worden diverse groepen antibiotica gebruikt. Op basis van het jaarlijkse gebruik, de toepassing en de globale eigenschappen zijn de sulfonamiden (sulfamethoxazole) en de tetracyclinen (oxytetracycline) in deze literatuurstudie geselecteerd en verder behandeld (gedrag, effecten, verspreiding in het milieu en risico's). Antibiotica mogen slechts kortdurend in het vee verblijven om de aanwezigheid in levensmiddelen tegen te gaan. Om deze reden worden ze na opname in het lichaam snel afgebroken of via mest en urine – al dan niet gemetaboliseerd – uitgescheiden. Via de mest komen de antibiotica op of in de bodem terecht. In de bodem kunnen antibiotica ophopen, verspreiden, afbreken en metaboliseren. Bij deze eigenschappen spelen veel factoren een rol. In dit onderzoek is naar voren gekomen dat de hoeveelheid mest (dus ook antibiotica), de pH, de temperatuur, de hoeveelheid water (hydrolyse), de hoeveelheid bacteriën, fractie organische koolstof, fractie zand, fractie klei, fractie silt en de hoeveelheid mineralen invloed hebben. Daarnaast spelen fotolyse en de zuurstofhoeveelheid mogelijk een rol. Over het algemeen kan geconcludeerd worden dat oxytetracycline sterk adsorbeert aan de bodemdeeltjes en dat sulfamethoxazole mobiel is. De afbraak van sulfonmethoxazole en oxytetracycline kan, afhankelijk van de diverse factoren, variëren van enkele dagen tot jaren. Over metabolisme zijn weinig gegevens gevonden.

Wanneer antibiotica in de bodem terecht komen, kunnen ze een direct of indirect effect uitoefenen. De kans dat antibiotica een direct effect hebben op bodemorganismen is vrijwel nihil in verband met de daarvoor te lage concentraties. De aangetoonde concentraties hebben waarschijnlijk wel invloed op de bodembacteriën en de microbiële processen. Antibiotica komen ook voor in het grondwater en in gewassen. De hoeveelheden zijn echter zo laag, waardoor ze geen directe bedreiging vormen voor de volksgezondheid. Indirect vormen antibiotica wel een bedreiging. Door de inbreng van voor bacteriën subletale hoeveelheden antibiotica in de bodem, kan er resistentie ontstaan onder bacteriën. Wanneer voor de mens pathogene bacteriën resistent worden, kunnen er in potentie gevolgen ontstaan voor de volksgezondheid. Deze



pathogene bacteriën kunnen namelijk niet meer onschadelijk worden gemaakt door antibiotica. Er zijn diverse resistentiegenen gevonden in het grondwater. Het is echter onduidelijk of deze resistentiegenen afkomstig zijn vanuit de intensieve veehouderij. Doordat er resistentiegenen zijn gevonden in het grondwater kunnen deze ook voorkomen in het drinkwater.

Op basis van de mestgegevens (de stikstofbelasting) van CBS, is bekeken waar ogenschijnlijk de meeste veterinaire antibiotica voorkomen. Hierbij is gekeken naar de drie belangrijkste producenten van mest: runderen, varkens en pluimvee (kippen). Verder is onderscheid gemaakt in graslanden en akkers, vanwege het gebruik van dierlijke mest op deze gronden (op graslanden grazen namelijk alleen koeien). Uit de gegevens van het CBS wordt duidelijk dat op een aantal akkerbouwregio's in het (noord) oosten, zuiden en midden van het land er veel dierlijke mest wordt toegepast. Verder wordt ook op de graslandregio's in het westen van Friesland en het oosten van Zuid-Holland veel dierlijke mest (vooral van melkkoeien) toegepast.

#### Kennislacunes:

Op basis van de literatuurstudie die is uitgevoerd kunnen een aantal belangrijke kennislacunes worden afgeleid. Hierbij gaat het om lacunes in de kennis voor wat betreft de Nederlandse situatie en een aantal algemene wetenschappelijke lacunes. Deze "kennislacunes" worden hieronder weergegeven:

- In Nederland zijn geen veldstudies bekend waarin het vóórkomen van antibiotica in de grond en het grondwater is onderzocht.
- Er is weinig openbare en direct beschikbare informatie voor handen over de verkoop en het gebruik van de actieve bestanddelen. Deze informatie zou eventueel gebruikt kunnen worden voor modelberekeningen.
- In studies worden verschillende stoffen onderzocht. Er zijn geen onderzoeken bekend waarin één actieve stof gevolgd wordt, vanaf de inname tot en met de uitstoot in het milieu.
- Het is onbekend hoeveel en welke metabolieten er precies gevormd worden in het vee, de mest en in de bodem.
- Het is onbekend hoeveel oxytetracycline, sulfamethoxazole en resistentiegenen er precies afgebroken wordt in het vee, de mest, de bodem en het grondwater.
- Het is moeilijk vast te stellen hoe de antibiotica precies zullen uitwerken op de bacteriegemeenschappen in de mest en de bodem. Ook de invloed op de bodemprocessen is te weinig onderzocht.
- Er zijn vooral Deense, Duitse, Engelse en Amerikaanse onderzoeken gedaan naar het gedrag van oxytetracycline, sulfamethoxazole en resistentiegenen in de bodem en het grondwater. Wanneer de relevante onderzoeken naast elkaar worden gelegd, is te zien dat vaak punten missen of te weinig onderzoek is gedaan (bijvoorbeeld hydrolyse en fotolyse). Ook zijn er weinig/geen toxiciteitsgegevens bekend. Wanneer het gedrag onbekend is, zijn de effecten en de risico's ook moeilijk te bepalen. Resistentie treedt waarschijnlijk wel op. Hierbij zijn echter de drempelconcentraties onduidelijk.
- Over accumulatie van oxytetracycline, sulfamethoxazole en resistentiegenen in de bodem en gewassen is weinig bekend. Hierdoor is er onder andere weinig inzicht in de rol van de bodem als mogelijk reservoir.
- Over bioaccumulatie en doorvergiftiging in hogere organismen is niets bekend.



## Begrippenlijst

Abiotische factor:	De invloed van fysisch-chemische factoren op levende wezens
Acute toxiciteit:	Negatieve effecten van antibiotica die vrij snel plaatsvinden (vaak binnen 48 uur)
Adsorberen:	Aan een deeltje/oppervlak binden
Aeroob:	Met zuurstof kunnen leven, zuurstof aanwezig
Anaeroob:	Zonder zuurstof kunnen leven, zuurstof afwezig
Bioaccumulatie:	Ophoping van bijvoorbeeld een antibioticum in een organisme
Biotische factor:	De invloed van een levende organisme op aan de ene kant hun abiotische milieu en aan de andere kant op andere organismen
Bodemdieren:	"Grote" levende wezens in de bodem, zoals de aardworm en de springstaart
Curatief:	De echte genezing van bijvoorbeeld een infectie. Wanneer er al een infectie is, wordt bijvoorbeeld antibiotica gegeven
Diffuse verontreiniging:	Bij diffuse bodembelasting wordt gedacht aan de belasting door bronnen die de bodem over een groter oppervlak belasten. Hierbij is er sprake van een min of meer homogene verdeling
Drempelconcentratie:	De concentratie van een stof waarbij bijvoorbeeld net wel of net geen resistentie ontstaat
Farmacokinetische eigenschappen:	Hoe stoffen worden toegediend en weer worden uitgescheiden
Farmacologisch:	De werking tussen een geneesmiddel en een levend biologisch systeem
Formula magistralis:	Diergeneesmiddel volgens recept in een apotheek bereidt
Formula officinalis:	Diergeneesmiddel volgens de aanwijzingen van een officieel handboek met voorschriften voor de analyse van geneesmiddelen (farmacopee) bereidt
Fotolyse:	Een chemische reactie waarbij een chemische verbinding wordt ontleedt door licht
Genotypen:	Een genotype is de erfelijke informatie over de eigenschappen van een organisme
Hydrofiel:	Iets wat van water houdt. Hierdoor lost een stof goed op in water
Hydrofoob:	Iets wat niet van water houdt (waterafstotend)
Hydrolyse:	Een chemische reactie waarbij een chemische verbinding reageert met water en daarbij in tweeën gesplitst wordt
Immunologisch:	Niet vatbaar voor schadelijk invloeden
Initiatiecomplex:	Een complex die zorgt voor het beginnen van de vertaling van het

*Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducares, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond*

Intestinaal:	DNA Heeft te maken met het darmkanaal
Isotopen:	Het aantal protonen in de kern bepaalt welke stof het is, waarbij het aantal elektronen in een atoom altijd gelijk is met het aantal protonen. Er zitten ook neutronen in een atoom. Het aantal neutronen hoeft niet hetzelfde te zijn als het aantal protonen en elektronen. Stoffen met verschillende verhoudingen protonen en neutronen maar die wel dezelfde hoeveelheid protonen hebben noemen we isotopen van elkaar.
Kation:	Een atoom of meerdere atomen die positief geladen is
Kruisresistentie:	Resistentie tegen een antibioticum en tegen antibiotica die lijken op dit antibioticum
Lagunes:	Een lagune is een soort meer, waarin in dit geval mest in wordt opgeslagen
LC:	Letale concentratie, de concentratie waarbij een aantal organismen het niet overleven
Lipofiel:	Vetminnend. Lipofiele stoffen lossen goed op in oliën en vetten
Metabolisme:	Metabolisme betekent letterlijk verandering of omzetting.
Multiresistentie:	Multiresistentie komt voor wanneer bijvoorbeeld bacteriën resistent zijn voor meerdere antibacteriële middelen
Mutageen:	Wanneer een stof mutageen is, kan deze het DNA beschadigen. Hierdoor ontstaan er erfelijke veranderingen
NOEC:	No Observed Effect Concentration. De hoogste concentratie van een verontreinigende stof waarbij nog geen effect op een organisme wordt waargenomen
Persistent:	Persistent betekend letterlijk dat iets lang in stand blijft. Persistente middelen worden moeilijk afgebroken
Preventief:	Voorkomen dat er problemen ontstaan door van te voren bijvoorbeeld antibiotica te geven
Proton:	Een positief geladen deeltje dat zich in de kern van een atoom bevindt.
Resistent:	Bacteriën die bijvoorbeeld ongevoelig zijn voor antibiotica
Respiratoir:	Betekend letterlijk ademhaling. Door middel van een respiratoir onderzoek kan bepaald worden hoeveel bacteriën er bijvoorbeeld sterven na de toevoeging van antibiotica
Subletaal:	Een antibioticum bijvoorbeeld die niet dodelijk is, maar wel zorgt voor letsel (gewond bijvoorbeeld)
Teratogeen:	Een stof die misvorming veroorzaakt tijdens de ontwikkeling
Thermolyse:	Een chemische reactie waarbij een chemische verbinding door verhitting gaat ontleden
TBR:	Toxiciteits Blootstellings Ratio, de verhouding tussen de toxiciteit en de blootstelling

## Bronnenlijst

### Interview

Montforts M.H.M.M., RIVM, Bilthoven, Senior risicobeoordelaar afdeling SEC (stoffen expertise centrum). Interview op 26-5-2008

Oosterwegel J.L.V., Geofox-Lexmond, Oldenzaal, Vestigingsleider. Interview op 04-02-2008

Schmitt H., Institute for Risk Assessment Sciences, Utrecht, Onderzoeker. Interview op 22-02-2008

### Literatuur/PDF

- Aga D.S., O' Connor S., Ensley S., Payero J. O., Snow D., and Tarkalson D., 2005. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(18):7165-7171.
- Agersø Y., Wulff G., Vaclavik E., Halling-Sørensen B., Jensen L.B., 2006. Effect of tetracycline residues in pig manure slurry on tetracycline-resistant bacteria and resistance gene tet(M) in soil microcosms. *Environ Int.* 2006 Sep;32(7):876-82. Epub 2006 Jun 30
- Arikan O.A., Sikora L.J., Mulbry W., Khan S.U., and Foster G.D., 2007. Composting rapidly reduces levels of extractable oxytetracycline in manure from therapeutically treated beef calves. *Bioresource Technology*. 98 (1):169-176.
- Batchelder A.R., 1982. Chlortetracycline and oxytetracycline effects on plant growth and development in soil systems. *Journal of Environmental Quality*. 11:675-678.
- Beck L., Römbke J., Breure A. M., and Mulder C., 2005. Considerations for the use of soil ecological classification and assessment concepts in soil protection. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 62(2):189-200.
- Berendsen H.J.A., 2000. *Landschap in delen – Overzicht van de geofactoren*. ISBN 90-232-3211-9. Uitgeverij Van Gorcum, Assen
- Berg J., Tom-Petersen A., and Nybroe O., 2004. Copper amendment of agricultural soil selects for bacterial antibiotic resistance in the field. *Letters in Applied Microbiology*.; 40(2):146-151.
- Berger K., Petersen B., and Buening-Pfaue H., 1986. Persistence of drugs occurring in liquid manure in the food chain (in German). *Archiv Für Lebensmittelhygiene*. 37(4):99-102.
- Bogaard A. van den., 2000. Diergeneeskundig gebruik van antibiotica in Nederland. Feiten en cijfers. *Tijdschrift voor diergeneeskunde*. 125(7):527-530.
- Boleas S., Alonso C., Babín M.M., Carbonell G., Fernández C., Pro J., Tarazona J., 2003. Effects assessment of the antimicrobial oxytetracycline Envirpharma, Lyon

---

Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducares, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond

- Boleas S., Alonso C., Pro J., Fernandez C., Carbonell G., and Tarazona J.V., 2005. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS 3) and influence of manure co-addition. *Journal of Hazardous Materials*. 122(3):233-241
- Boxall A.B.A., Blackwell P., Cavallo R., Kay P., and Tolls J., 2002. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. *Toxicology Letters*. 131:19-28.
- Boxall A.B.A., Fogg L., Blackwell P.A., Kay P., and Pemberton E.J., 2002<sup>2</sup>. Review of veterinary medicines in the environment. Bristol: UK Environment Agency Environment Agency R & D Technical Report P6-012/8TR.
- Boxall A.B.A., Fogg L.A., Blackwell P.A., Kay P., Pemberton E.J., and Croxford A., 2004. Veterinary medicines in the environment. *Rev Environ Contam Toxicol*. 180:1-91.
- Blackwell P.A., Boxall A.B.A., Kay P., and Noble H., 2005. Evaluation of a lower tier exposure assessment model for veterinary medicines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53:2192-2201.
- Campagnolo E.R., Johnson K.R., Karpati A., Rubin C.S., Kolpin D.W., Meyer M.T., Esteban J.E., Currier R.W., Smith K., Thu K.M., and McGeehin M., 2002. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. *Science of the Total Environment*. 299:89-95
- Chander Y., Kumar K., Goyal S M., and Gupta S.C., 2005. Antibacterial activity of soil-bound antibiotics. *Journal of Environmental Quality*. 34:1952-1957.
- Chee-Sanford J.C., Aminov R.I., Krapac, I.J., Garrigues-Jeanjean N., and Mackie R.I. 2001. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(4):1494-1502.
- Christian T., Schneider R.J., Färber H.A., Skutlarek D., Meyer M.T., and Goldbach H.E., 2003. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica*. 31(1 ):36-44.
- Colinas C., Ingham E., Molina R., 1994. Population responses of target and non-target forest soil organisms to selected biocides. *Soil Biol Biochem* 26:41-47
- Dang H., Zhang, X.; Song, L.; Chang, Y., and Yang, G., 2007. Molecular determination of oxytetracycline-resistant bacteria and their resistance genes from mariculture environments of China. *Journal of Applied Microbiology*. doi:10.1111/j.1365-2672.2007.03494.x.
- Davis M.A. Hancock D.D., Besser T.E., Daniels J.B., Baker K. and Call D.R., 2007. Antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovar Dublin isolates from beef and dairy sources. *Vet. Microbiol*. 119, 221-230
- Dolliver H., Kumar K., and Gupta S., 2007. Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *J. Environ. Qual.*, Jul 2007; 36: 1224-30. Journal article
- Drillia P., Dokianakis S.N., Fountoulakis M.S., Kornaros M., Stamatelatou K., and

- Lyberatos, G., 2005<sup>1</sup>. On the occasional biodegradation of pharmaceuticals in the activated sludge process: the example of the antibiotic sulfamethoxazole. *Journal of Hazardous Materials*
- Drillia P., Stamatelatos K., and Lyberatos, G., 2005<sup>2</sup>. Fate and mobility of pharmaceuticals in solid matrices. *Chemosphere*. 60:1034-1044
- EEG, 1979. Council Directive 80/68/EEC of 17 December 1979 on the protection of groundwater against pollution caused by certain dangerous substances. 1979; 68.
- EEG, 1990. Council Regulation (EEC) No 2377/90 of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin.
- EEG, 1991. Council Directive 91/676/EEC of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources.
- EG, 1998<sup>1</sup>. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption.
- EG, 1998<sup>2</sup>. Richtlijn 98/8/EG van het Europees Parlement en de Raad van 16 februari 1998 betreffende het op de markt brengen van biociden
- EG, 1999. Richtlijn 1999/45/EG van het Europees Parlement en de Raad van 30.7.1999 betreffende de onderlinge aanpassing van de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen van de lidstaten inzake de indeling, de verpakking en het kenmerken van gevaarlijke preparaten.
- EG, 2000, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy.
- EG, 2001. Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products.
- EG, 2004. Verordening (EG) nr. 726/2004 van het Europees Parlement en de Raad van 31 maart 2004 tot vaststelling van communautaire procedures voor het verlenen van vergunningen en het toezicht op geneesmiddelen voor menselijk en diergeneeskundig gebruik en tot oprichting van een Europees Geneesmiddelenbureau. 726/2004:
- EG, 2006<sup>1</sup>. Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the protection of soil and amending Directive 2004/35/EC. Brussels: Commission of the European Communities; COM(2006) 232 final.
- EG, 2006<sup>2</sup>. Publicatieblad van de Europese Unie: Richtsnoeren voor de definitie van een mogelijk ernstig risico voor de gezondheid van mens of dier of voor het milieu, als bedoeld in artikel 33, leden 1 en 2, van Richtlijn 2001/82/EG maart 2006
- EG, 2006<sup>3</sup>. Richtlijn 2006/118/EG van het Europees Parlement en de Raad van 27.12.2006 betreffende de bescherming van het grondwater tegen verontreiniging en achteruitgang van de toestand.

- EHJ, 2005<sup>1</sup>. C-121/03. (r.o 101-103). Verhouding tussen verschillende EG-milieurichtlijnen, in het bijzonder de waterrichtlijnen, resultaatsverplichtingen. Luxemburg: Europese hof van Justitie, Derde kamer; 2005; Arrest van 8 september 2005.
- EHJ, 2005<sup>2</sup>. C-416/02. (r.o 89/94/95). Verhouding tussen verschillende EG-milieurichtlijnen, in het bijzonder de waterrichtlijnen, resultaatsverplichtingen. Luxemburg: Europese hof van Justitie, Derde kamer; 2005; Arrest van 8 september 2005.
- EMA (2007). Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products; in support of the VICH guidelines GL6 and GL38. London, Committee for medicinal products for veterinary use (CVMP) of the European Medicines Agency.
- Feinman S.E., Matheson J.C., 1978. Draft environmental impact statement: subtherapeutic antibacterial agents in animal feeds. Food and Drug Administration Department of Health, Education and Welfare Report. Washington, D.C.: Food and Drug Administration. p. 372.
- FIDIN, 1999. Antibioticrapportage 2000. Den Haag: FIDIN Werkgroep Antibioticumbeleid
- FIDIN, 2006. Antibioticrapportage 2005. Den Haag: FIDIN Werkgroep Antibioticumbeleid
- FIDIN, 2007. Antibioticrapportage 2006. Den Haag: FIDIN Werkgroep Antibioticumbeleid
- Gezondheidsraad, 2001. *Milieurisico's van geneesmiddelen*. Den Haag. ISBN: 90-5549-381-1. Publicatienummer: 2001/17.
- Gool S. van., 1993. Possible environmental effects of antibiotic residues in animal manure. *Tijdschrift Diergeneeskunde* 118:8-10.
- Haller M.Y., Müller S.R., McArdell C.S., Alder A.C., Suter M.J.-F., 2002. Quantification of Veterinary Antibiotics (Sulfonamides and Trimethoprim) in Animal Manure by Liquid Chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 952. 111-120
- Halling-Sørensen B., 2001. Inhibition of Aerobic Growth and Nitrification of Bacteria in Sewage Sludge by Antibacterial Agents. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40(4):451-460.
- Halling-Sørensen B., Lykkeberg A., Ingerslev F., Blackwell P., and Tjørnelund, J., 2003. Characterisation of the abiotic degradation pathways of oxytetracyclines in soil Interstitial water using LC-MS-MS. *Chemosphere.*; 50(10):1331-1342.
- Hamscher G., Sczesny S., Höper, H., and Nau, H., 2002. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry.*; 74(7):1509-1518.
- Hamscher G., Pawelzick H.T., Hoper H., and Nau H., 2004. Antibiotics in Soil: Routes of

- Entry, Environmental Concentrations, Fate, and Possible Effects, Chapter 11 in Pharmaceuticals in the Environment, Klaus Kummerer, editor, ISBN 3-540-21342-2, Springer-Verlag, Berlin, Germany, 527 p.
- Hirsch R., Ternes T.A., Haberer K. and Kratz K.L. 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *The Science of the Total Environment*. 225:109-118
- Hund-Rinke K., Simon M., and Lukow T., 2004. Effects of tetracycline on the soil microflora: function, diversity, resistance. *Journal of Soils and Sediments*. 4:11-16.
- Ingerslev F. and Halling-Sørensen B., 2000. Biodegradation properties of sulfonamides in activated sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 19:2467-2473.
- Ingerslev F. and Halling-Sørensen B., 2001. Biodegradability of metronidazole, olaquinox, and tylosin, and formation of tylosin degradation products in aerobic soil/manure slurries. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 48:311-320.
- Jjemba P.K., 2002. The potential impact of veterinary and human therapeutic agents in manure and biosolids on plants grown on arable land: a review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 93:267-278.
- Jones A.D., Bruland G.L., Agrawal S.G., and Vasudevan D., 2005. Factors influencing the sorption of oxytetracycline to soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 24(4):761-770.
- Kay P., Blackwell P.A., and Boxall, A.B.A., 2004. Fate of veterinary antibiotics in a macroporous tile drained clay soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23(5):1136-1144
- Kemper N., 2007. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators* 8:1-13
- Knotters M., 2007. Het effect van de kaderrichtlijn water en het Europese op de bodemkwaliteit in Nederland. Alterra, rapport nummer 1580
- Koike S., Krapac I.G., Oliver H.D., Yannarell A.C., Chee-Sanford J.C., Aminov R.I. and Mackie, R.I., 2007. Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-year period. *Applied and Environmental Microbiology*. 73:4813-4823.
- Kornalijslijper J.E., Rahamat-Langendoen J.C., Duynhoven Y.T.H.P. van., 2008. Volksgezondheidsaspecten van veehouderij-megabedrijven in Nederland; zoonosen en antibioticumresistentie. RIVM briefrapport 215011002. 26 p in Dutch. RIVM te Bilthoven
- Kumar K., Gupta S.C., Baidoo S.K., Chander Y. and Rosen C.J., 2005. Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. Published in *J Environ Qual* 34:2082-2085
- Lahr J., 2004. Ecologische risico's van diergeneesmiddelengebruik. Wageningen: Alterra-rapport 976.
- Lahr J., 2007. Nieuwe verontreinigingen in de bodem. Wageningen: Alterra-rapport 1619.

- Lindsey M.E., Meyer M. and Thurman E.M., 2001. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. *Analytical Chemistry*. 73:4640-4646.
- Lijzen J.P.A., Ekelenkamp A., 1995. Bronnen van diffuse bodembelasting. RIVM Rapport 950011007
- LNV, 2006. Meststoffenwetgeving. Den Haag
- Loftin K.A., Adams C.D., Meyer M.T., Surampalli R., 2008. Effects of ionic strength, temperature, and pH on degradation of selected antibiotics. *J Environ Qual*; 37: 378-386
- MacKay A.A., Canterbury B., 2005. Oxytetracycline Sorption to Organic Matter by Metal-Bridging. Published in *J. Environ. Qual.* 34:1964–1971
- Mackie R.I., Koike S., Krapac I.G., Chee Sanford J.C., Maxwell S., Aminov R.I., 2006. Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. *Animal Biotechnology*. 17:157-176.
- MARAN, 2007. Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in The Netherlands in 2005. The Hague: VANTURES;
- Montforts M.H.M.M., Van Rijswijk H.F.M.W., Freriks A.A., Keessen A., and Wuijts S., 2006. De relatie tussen productregistratie en waterkwaliteitsregelgeving: geneesmiddelen, diergeneesmiddelen, en veevoederadditieven. Bilthoven, the Netherlands: RIVM; Report 601500003/2006. ISBN 978-90-6960-146-5.
- Montforts M.H.M.M. and Keessen A., 2007<sup>1</sup>. Openbaarheid van milieu-informatie bij registratie van (dier)geneesmiddelen. Bilthoven: RIVM; Briefrapport 601500006. ISBN 9789069601922.
- Montforts M.H.M.M., Rijs G.B.J., Staeb J.A., and Schmitt, H., 2007<sup>2</sup>. Diergeneesmiddelen en natuurlijke hormonen in oppervlaktewater van gebieden met intensieve veehouderij. RIVM : Bilthoven; 601500004/2007.
- Norström M., Hofshagen M., Stavnes T., Schau J., Lassen J., Kruse H. 2006. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* from humans and broilers in Norway. *Epidemiol Infect.* 2006 Feb;134(1):127-30
- Open Universiteit Nederland, datum onbekend. Literatuuronderzoek: Topics in communicatietechnologie. Gedownload via <http://icommas.ou.nl/icm-cursus/Downloads/AIC-1-Literatuuronderzoek.pdf> op 12-02-2008



- Patten D.K., Wolf D., Kunkle W.E., and Douglass L. W., 1980. Effect of antibiotics in beef cattle feces on nitrogen and carbon mineralisation in soil and on plant growth and composition. *Journal of Environmental Quality*. 9:167-172.
- Paulissen M.P.C.P., Nijboer R.C., Verdonschot P.F.M., 2007. Grondwater in perspectief, een overzicht van hydrochemische watertypen in Nederland. Alterra-rapport 1447. ISSN 1566-7197
- Pramer D., 1958. The persistence and biological effects of antibiotics in soil. *Applied Microbiology*. 6(3):221-224.
- Rabølle M. and Spliid, N.H., 2000. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox and oxytetracycline and tylosine in soil. *Chemosphere*. 40:715-722.
- Rijs G.B.J., Laane R.W.P.M., and De Maagd G-J., 2003. Voorkomen is beter dan genezen. Een beleidsanalyse over 'geneesmiddelen en watermilieu'. Lelystad, the Netherlands: RIZA; Report No. 2003.037.
- Samuelson O.B., Torsvik V., Ervik A., 1992. Long-range changes in oxytetracycline concentration and bacterial resistance toward oxytetracycline in a fish farm sediment after medication. *Sci Total Environ* 114:25-36
- Sarmah, A.K., Meyer, M.t., Boxall, A.B.A., 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics in the environment. *Chemosphere* 65, 725-759
- Schmitt H., 2005<sup>1</sup>. The effects of veterinary antibiotics on soil microbial communities . Wetenschappelijk proefschrift, Universiteit van Utrecht
- Schmitt H., Haapakangasa H. and Beelen P. van. 2005<sup>2</sup>. Effects of antibiotics on soil microorganisms: time and nutrients influence pollution-induced community tolerance. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 1882-1892
- Schmitt H., Stoob K., Hamscher G., Smit E. & Seinen W., 2006. Tetracyclines and tetracycline resistance in agricultural soils: microcosm and field studies. *Microb Ecol*. 2006 Apr;51(3):267-76. Epub 2006 Apr 6.
- Schmitt, H. (2007). Antibiotika als Umweltkontaminanten - Effekte auf Mikroorganismen. In: Bayerisches Landesamt für Umwelt (ed) Münchener Beiträge zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie; Band 58. Oldenbourg Industrieverlag, München
- Schmitt, H. and J. Römbke (2008). The ecotoxicological effects of pharmaceuticals (antibiotics and antiparasitics) in the terrestrial environment - a review. In: Kümmerer, K. (ed.) *Pharmaceuticals in the environment*.
- Sengeløv G., Agersø Y., Halling-Sørensen B., Baloda S.B., Andersen J. S. and Jensen, L. B., 2003. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environment International*. 28:587-595.
- Séveno N.A., Kallifidas D., Smalla K., Van Elsas J.D., Collard J-M., Karagouni A.D. and Wellington E.M., 2002. Occurrence and reservoirs of antibiotic resistance genes in the environment. *Reviews in Medical Microbiology*. 13(1):15-27.
- Sithole B.B. and Guy R. D., 1987. Models for tetracycline in aquatic environments. I.

- Interaction with bentonite clay systems. *Water, Air, and Soil Pollution*. 32:303-314.
- Soulides D.A., Pinck L.A. and Allison F.E., 1962. Antibiotics in soils: V. Stability and release of soil adsorbed antibiotics. *Soil Science*. 94:239-244.
- Srinivasan V., Gillespie B.E., Nguyen L.T., Headrick S.I., Murinda S.E, and Oliver S.P., 2006. Characterization of antimicrobial resistance patterns and Class 1 integrons in *Escherichia coli* O26 isolated from human and animals. *International journal of antimicrobial agents*. ISSN 0924-8579. 2007, vol. 29: 3, pp. 254-262
- Stigt R. van. (redactie) et al. 1994. *Basisboek Toegepaste Milieuchemie*. ISBN 90-5352-135-6. Uitgeverij Boom.
- Stoob K., 2005. Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft - Folgen für die Umwelt. *EAWAG news*, März 2005:59d:12-15. *Journal Article*.
- Sukul P., Spiteller M., 2006. Sulfonamides in the environment as veterinary drugs: present status and future scopes - A review. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 187, 67-102.
- Ter Laak T.L., Agbo S.O., Barendregt A., Hermens J. L. M., 2006<sup>1</sup>. Freely dissolved concentrations of PAHs in soil pore water: Measurements via solid-phase extraction and consequences for soil tests. *Environ. Sci. Technol.*, 40 (4), 1307-1313.
- Ter Laak T.L., Gebbink W. and Tolls J., 2006<sup>2</sup>. The effect of pH and ionic strength on the sorption of sulfachloropyridazine, tylosin, and oxytetracycline to soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(4):904-911.
- Ter Laak T.L., Gebbink W. and Tolls J., 2006<sup>3</sup>. Estimation of soil sorption coefficients of veterinary pharmaceuticals from soil properties. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25(4):933-941.
- Thiele S., Beck I.C., 2001. Wirkungen pharmazeutischer Antibiotika auf die Bodenmikroflora- Bestimmung mittels ausgewählter bodenbiologischer Testverfahren. *Mitteilungen der deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 96:383-384
- Thiele S., Seibicke T., Leinweber P., 2002. Sorption of sulfonamide antibiotic pharmaceuticals in soil particle size fractions. *SETAC 12h Meeting*, May 12-16, 2002, Vienna
- Thiele-Bruhn S., 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 166(2):145-167
- Thiele-Bruhn S., and Aust M.O., 2004<sup>1</sup>. Effects of pig slurry on the sorption of sulfonamide antibiotics in soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 47:31-39.
- Thiele-Bruhn S., Seibicke T., Schulten H.R. and Leinweber, P., 2004<sup>2</sup>. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions. *Journal of Environmental Quality*. 33(4):1331-1342.
- Thiele-Bruhn S. and Beck I.C. 2005. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere*. 59(4):457-465.

- Universiteit Leiden, 2008. Potentiële effecten van diergeneesmiddelen op het terrestrische milieu in Nederland. CML-rapport 178.
- Versteegh J.F.M., Stolker A.A.M., Niesing W., and Muller, J. J. A., 2003. Geneesmiddelen in drinkwater en drinkwaterbronnen. Resultaten van het meetprogramma 2002. Bilthoven: RIVM; RIVM rapport 703719004.
- VICH, 2000. Environmental Impact Assessment (EIAs) for Veterinary Medicinal Products (VMPs) - Phase I. London: CVMP/VICH; CVMP/VICH/592/98-final.
- VICH, 2003. Environmental Impact Assessment (EIAs) for Veterinary Medicinal Products (VMPs) - Phase II Draft Guidance. London: CVMP/VICH; CVMP/VICH/790/03-Consultation.
- VICH (2007). Topic GL6 (Ecotoxicity Phase I): Guideline on environmental impact assessment (EIAS) for veterinary medicinal products - Phase I. 2007. London, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- Wall R., Strong L., 1987. Environmental consequences of treating cattle with the antiparasitic drug ivermectin. *Nature* 327: 418-421
- Wang Q., Yates S.R., 2007. Laboratory Study of Oxytetracycline Degradation Kinetics in Animal Manure and Soil. Chemistry Department, Delaware State University, Dover, Delaware 19901, and USDA-ARS Salinity Laboratory, Riverside, California 92507. *J. Agric. Food Chem.*, 56 (5), 1683–1688, 2008.
- Wassenaar T.M., 2005. Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and implications for human health. *Critical Reviews in Microbiology*. 31: 155-169
- Wesselink L.G., Notenboom J., Tiktak A., 2006. De consequenties van de Europese bodemrichtlijn voor het Nederlandse beleid. MNP, rapport nummer 500094002.
- WRc-NSF, 2000. The development of a model for estimating the environmental concentration (PECs) of Veterinary medicines in soil following manure spreading. London, UK.: MAFF; VM0295.
- Ye Z., Weinberg H.S., Meyer M.T., 2004. Occurrence of Antibiotics in Drinking Water. P. 138-142
- Zuidema M., Klein A.E., 1993. Rapport bacteriële antibiotische resistentie en bodemkwaliteit. Rapport nr. R01, TCB, Den Haag

#### **Internet**

- CBS, 2008. Landbouwtelling via statline. [www.CBS.nl](http://www.CBS.nl). Geraadpleegd op 07-11-2008
- CBS, 2008. Statline database op cbs website: [www.cbs.nl](http://www.cbs.nl).
- CVZ, 2008. Farmacotherapeutisch kompas: Middelen bij

infectieziekten/Sulfonamiden/Trimethoprim. <http://www.fk.cvz.nl/default.asp?soort=inleidendetekst&naam=inl%20sulfonamiden%20trimethoprim>. Geraadpleegd op 31-04-2008

Eu-milieubeleid, 2008. Bescherming van grondwater. Website over het Europese milieubeleid. <http://www.eu-milieubeleid.nl/ch04s09.html>. Geraadpleegd op 28-02-2008

Europadecentraal, 2008. Grondwaterrichtlijn. <http://www.europadecentraal.nl/menu/540/Grondwaterrichtlijn.html>. Geraadpleegd op 25-02-2008

Federaal Wetenschapsbeleid, 2007. Sulfonamiden. Ga naar zoeken, zoek op sulfonamiden. [http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub\\_ostc/NP2/Rnp035ug1\\_nl.pdf](http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub_ostc/NP2/Rnp035ug1_nl.pdf). Geraadpleegd op 31-04-2008

Fidin, 2008. Repertorium. Hoofdstuk 8: Antibiotica voor systemische toepassing. <http://repertorium.fidin.nl/index.cfm?object=repertorium&template=display.repertorium&chapter=8&id=2>. Geraadpleegd op 27-04-2008

Hago, 2004. Alles over MRSA. [www.allesovermrsa.nl](http://www.allesovermrsa.nl). Geraadpleegd op 26-05-2008

LNV, 2008. Tabel 5 Forfaitaire stikstof- en fosfaatgehalten in dierlijke mest. [http://www.minlnv.nl/portal/page?\\_pageid=122,1780509&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL&p\\_file\\_id=30912](http://www.minlnv.nl/portal/page?_pageid=122,1780509&_dad=portal&_schema=PORTAL&p_file_id=30912). Geraadpleegd op 10-11-2008

Milieu en natuurcompendium, 2005. Ruimtegebruik openbare watervoorziening, 1995. <http://www.milieuenatuurcompendium.nl/indicatoren/nl0065-Ruimtegebruik-openbare-watervoorziening.html?i=12-18>. Geraadpleegd op 27-05-2008

Milieu en natuurcompendium, 2006. Wettelijke normen voor het gebruik van meststoffen. <http://www.milieuenatuurcompendium.nl/indicatoren/nl0400-Wettelijke-normen-meststoffen.html?i=11-60>. Geraadpleegd op 28-05-2008

Min. van LNV, 2007. Factsheet Kanalisatie Diergeneesmiddelen. [www.minlnv.nl/cdlpub/servlet/CDLServlet?p\\_file\\_id=20794](http://www.minlnv.nl/cdlpub/servlet/CDLServlet?p_file_id=20794). Geraadpleegd op 14-03-2008

Overheid.nl, 2008<sup>1</sup>. Diergeneesmiddelenwet. <http://wetten.overheid.nl>. Geraadpleegd op 07-03-2008

Overheid.nl, 2008<sup>2</sup>. Lozingenbesluit Bodem. <http://wetten.overheid.nl>. Geraadpleegd op 13-03-2008

Overheid.nl, 2008<sup>3</sup>. Wet bodembescherming. <http://wetten.overheid.nl>. Geraadpleegd op 06-03-2008

Overheid.nl, 2008<sup>4</sup>. Wet milieubeheer. <http://wetten.overheid.nl>. Geraadpleegd op 13-03-2008

Pedosphere, 2002. Soil texture triangle: Bulk density. <http://www.pedosphere.com/resources/bulkdensity/>. Geraadpleegd op 27-05-2008

Senternovem, 2008. Vernieuwde Wet bodembescherming (Wbb).

<http://www.senternovem.nl/Bodemplus/bodemsanering/Wbb/index.asp>. Geraadpleegd op 04-03-2008

Wageningen UR, 2008. Risicoschatting gebruik antibiotica en coccidiostatica.

<http://www.verantwoordeveehouderij.nl/index.asp?innovatie/veevoedingsketen/antibiotica.asp>. Geraadpleegd op 24-04-2008



## **Bijlage 1: Het Wettelijk kader**

In dit hoofdstuk wordt beschreven welke wet- en regelgeving is opgesteld voor wat betreft de diergeneesmiddelen en het milieu. Hierbij gaat het om de regelgeving voor de registratie van antibiotica en het kwaliteitsbeleid voor wat betreft de diergeneesmiddelen in de bodem en het grondwater. Elke paragraaf begint met het Europese beleid, waarna het landelijk beleid beschreven wordt.

## 1.1 Kwalificatie van stoffen

In deze paragraaf wordt beschreven wat de kwalificatie is van stoffen in de bodemkwaliteit- en grondwaterkwaliteitsregelgeving en in de diergeneesmiddelen- wetgeving. De rode lijn hierbij zijn de begrippen bodem en grondwater en de beschermingsdoelstelling die daaraan is toegekend. Het is belangrijk om te weten wat de juridische afbakening is van de begrippen in verband met de toepassing van de regelgeving. Het beschermdoel geeft weer welke kwaliteit de bodem moet hebben, of welke verandering van kwaliteit gewenst of ongewenst is {*Montforts et al., 2006*}.

### 1.1.1 Oude Grondwaterrichtlijn (80/68/EG)

Het doel van de Grondwaterrichtlijn (OGWR) is "het voorkomen van verontreiniging van het grondwater door stoffen die behoren tot de families en groepen van stoffen die worden vermeld in de lijst 1 of 2 van de bijlage". In deze twee lijsten (Lijst 1: "zwarte stoffenlijst" en Lijst 2: "grijze stoffenlijst"), staat de wijze weergegeven waarop families en groepen van stoffen gereguleerd moeten worden. Lijst 1 bestaat uit stoffen waarvan lozingen voorkomen moeten worden en Lijst 2 bestaat uit stoffen waarvan de verontreiniging moet worden beperkt (art. 3 OGWR).

Ten aanzien van artikel 3 is een uitzondering gemaakt voor de volgende punten:

- Wanneer duidelijk is dat een lozing weinig Lijst 1 en 2 stoffen bevat en de lozing geen verslechtering van de grondwaterkwaliteit oplevert, is de lozing uitgesloten van artikel 3.
- Er zou eventueel een vergunning uitgegeven kunnen worden voor het indirect lozen van Lijst 1-stoffen en het indirect/direct lozen van Lijst 2-stoffen. Hierbij moet er een voorafgaand onderzoek zijn geweest. Daarnaast moeten alle voorzorgsmaatregelen zijn getroffen om verontreiniging van het grondwater te voorkomen (art. 3 en art. 5 OGWR).

In de Grondwaterrichtlijn wordt verontreiniging niet gedefinieerd aan de hand van maximaal toegestane concentraties stoffen in het grondwater, maar door te kijken naar het effect voor mens en milieu. De Grondwaterrichtlijn definieert verontreiniging als volgt: "*het direct of indirect door de mens lozen van stoffen in het grondwater, ten gevolge waarvan de mens en het milieu in gevaar wordt gebracht, geschaad of gehinderd*" (art.1, lid 2 d OGWR) {Eu-milieubeleid, 2008}.

Onder grondwater wordt verstaan, "*al het water dat zich onder het bodemoppervlak in de verzadigde zone bevindt en dat in direct contact met bodem of ondergrond staat*" (art. 1, lid 2a OGWR).

Voor lijst 1-stoffen worden door de Commissie normen vastgesteld. Het nationale bevoegd gezag moet bepalen of een stof, waarvoor geen normen zijn opgesteld door de Commissie, valt onder de twee lijsten. In de lijsten worden nauwkeurige criteria weergegeven waaraan de stoffen getoetst of gereguleerd kunnen worden. De criteria geven een stof weer op basis van: structuur, biologische activiteit, herkomst, fysisch-chemische reactiviteit of samenstelling (aanwezigheid van een element) {*Montforts et al., 2006*}. Wanneer gekeken wordt in de twee lijsten, kan geconcludeerd worden dat antibiotica mogelijk vallen onder categorie 4 van lijst 1: "*Stoffen die in of via het water een kankerverwekkende, mutagene of teratogene werking hebben*".

Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducaras, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond

Bijlagen

### 1.1.2 De Kaderrichtlijn water (2000/60/EG)

Het doel van de Kaderrichtlijn water (KRW) is onder andere een vermindering van verontreinigingen en de beschikbaarheid van voldoende oppervlakte- en grondwater van een goede kwaliteit waarborgen. Met een goede kwaliteit wordt een "goede toestand" in chemisch en ecologisch opzicht bedoeld. Voor grondwater is vooral een "goede toestand" in chemisch opzicht van belang, in verband met de stoffen die mogelijk in het grondwater kunnen komen. Aan een goede chemische toestand voor grondwater wordt voldaan wanneer "de chemische toestand van een grondwaterlichaam aan alle in de tabel in punt 2.3.2 van bijlage V genoemde voorwaarden voldoet" (art. 2, lid 25 KRW). De normstelling van de KRW wordt op drie niveaus bepaald: Europees, per stroomgebied en landelijk. Op Europees niveau is een lijst met prioritair stoffen opgesteld (bijlage X KRW). De prioriteitenlijst bevat stoffen waarvoor onmiddellijke aandacht is. Dit is omdat prioritair stoffen een significant risico hebben voor of via het aquatisch milieu. Om het aquatisch milieu te beschermen moeten de lozingen, emissies en verliezen van emissies of verliezen van prioritair stoffen geleidelijk worden beëindigd of worden stopgezet. Antibiotica wordt niet gezien als een prioritair stof.

Nationaal gezien is het beleidsvoornemen, net als het Europese beleid: het bereiken van een "goede chemische en ecologische toestand". In aanvulling op de lijst met Prioritair stoffen heeft de rijksoverheid voornemens om voor overige relevante verontreinigende stoffen normen vast te stellen in een AMVB (Algemene Maatregelen Van Bestuur). Voor de normstelling wordt uitgegaan van de lijst die is beschreven in de Gevaarlijk stoffenrichtlijn *{Montforts et al., 2006}*. Volgens bijlage II van de KRW moeten lidstaten informatie verzamelen in verband met significante vervuiling van diffuse bronnen, waarbij met name wordt gekeken naar bijlage VIII van de KRW. In bijlage VIII staan stoffen weergegeven die mogelijk tot een verontreiniging kunnen leiden (art. 2, lid 31 KRW). Hierbij is het belangrijk om een onderscheid te maken in stoffen waarvan de inbreng moet worden voorkomen en stoffen waarvan de inbreng moet worden beperkt. Aan de hand van bijlage VIII van de KRW, moeten stoffen die daadwerkelijk of mogelijk een risico vormen worden aangeduid. Wanneer in de bijlagen van de KRW wordt gekeken, is te zien dat antibiotica niet expliciet zijn meegenomen *{Europadecentraal, 2008}*.

### 1.1.3 Nieuwe Grondwaterrichtlijn (2006/118/EG)

Vanuit de Kaderrichtlijn water is in 2006 de nieuwe Grondwaterrichtlijn (NGWR) opgesteld. In de KRW zijn algemene bepalingen opgenomen in verband met de bescherming en het behoud van het grondwater. De nieuwe Grondwaterrichtlijn bevat specifieke grondwaterbepalingen en is een aanvulling op de bepalingen die zijn beschreven in de KRW. Het doel van de nieuwe Grondwaterrichtlijn is "om de achteruitgang van de toestand van alle grondwaterlichamen te voorkomen" (art 1, lid 2 NGWR). Een belangrijk verschil met de oude Grondwaterrichtlijn is dat er in de nieuwe Grondwaterrichtlijn gewerkt wordt met criteria voor een "goede chemische" toestand van het grondwater (net als in de KRW). In de oude Grondwaterrichtlijn wordt gewerkt met Lijst 1 en Lijst 2-stoffen. Daarnaast wordt in de oude Grondwaterrichtlijn het grondwater bijzonder beschermd tegen indirecte lozingen. In de nieuwe Grondwaterrichtlijn worden indirecte lozingen algemeen gereguleerd. De bescherming die door de oude Grondwaterrichtlijn is aangegeven, in verband met het voorkomen of beperken van zowel directe als indirecte inbreng van verontreinigende stoffen in het grondwater, wordt in de nieuwe Grondwaterrichtlijn gecontinueerd.

Bij de beoordeling van de chemische toestand van een grondwaterlichaam worden volgens de nieuwe Grondwaterrichtlijn de volgende criteria gebruikt (art 3, lid 1 en 5 NGWR):

- grondwaterkwaliteitsnormen zoals bedoeld in bijlage 1 van de nieuwe Grondwaterrichtlijn. Antibiotica zijn hierin niet meegenomen.



- door de lidstaten vast te stellen drempelwaarden voor verontreinigende stoffen, groepen verontreinigende stoffen en indicatoren van verontreinigingen. Deze drempelwaarden moeten worden opgesteld volgens de in bijlage 2 deel A te volgen procedure. Hierbij moet rekening worden gehouden met de lijst die is aangegeven in bijlage 2 deel B
- de gegevens die in bijlage 2 deel c van de nieuwe Grondwaterrichtlijn omschreven zijn, moeten worden inbegrepen.

De drempelwaarden zijn niet bedoeld voor de beoordeling van lokale situaties, zoals bestaande bodem- of grondwaterverontreinigingen of het inbrengen van verontreinigingen in de bodem. Wanneer de lokale verontreiniging echter ervoor zorgt dat de goede toestand van het grondwaterlichaam in gevaar komt, moeten er alsnog drempelwaarden worden opgesteld. Er is een mogelijkheid voor lidstaten om de lijst van drempelwaarden te wijzigen wanneer nieuwe informatie over verontreinigende stoffen, groepen verontreinigende stoffen of indicatoren voor handen is in verband met de bescherming van het milieu en de menselijke gezondheid (art 3 lid 6 NGWR). Daarnaast kunnen ook drempelwaarden worden geschrapt, wanneer de desbetreffende verontreinigende stoffen niet langer voor gevaar zorgen. In artikel 6 van de nieuwe Grondwaterrichtlijn zijn bepalingen opgenomen in verband met de bescherming vanuit lokale en diffuse bronnen. De inbreng van verontreinigende stoffen vanuit diffuse bronnen moet worden tegengegaan, wanneer dit technisch haalbaar is (art. 6, lid 2 NGWR).

#### 1.1.4 Kaderrichtlijn bodem (toekomst)

In de afgelopen jaren zijn er diverse richtlijnen en verordeningen verschenen die deels als doel hebben om de kwaliteit van de leefomgeving te verbeteren. De richtlijnen en verordeningen richten zich niet specifiek op de bodem, ze kunnen echter wel de kwaliteit van de bodem beïnvloeden. Hierbij moet worden opgemerkt dat zij niet voldoende bescherming bieden. Vandaar dat de Europese Commissie in 2002 een Europese bodemstrategie presenteerde. Een onderdeel van deze strategie is de Kaderrichtlijn bodem (Krb) {*Knotters M. et al., 2007*}. Deze richtlijn wordt waarschijnlijk in de toekomst in gebruik genomen. Het doel van deze richtlijn is: het beschermen van bodemfuncties, herstel van verontreinigende bodems, voorkomen van achteruitgang van bodems en bodembescherming in andere beleidsvelden integreren. Verder moet de richtlijn een stimulatie zijn voor het nemen van maatregelen om te voorkomen dat gevaarlijke stoffen die een risico vormen voor mens en milieu in de bodem komen. Hierbij moet worden aangegeven dat in de Krb geen normen worden weergegeven. De relatie van de Krb met de overige (bovenstaande) richtlijnen wordt in tabel 1.1 weergegeven.

<b>Krb</b>	<b>KRW</b>	<b>Oude Grondwaterrichtlijn</b>	<b>Nieuwe Grondwaterrichtlijn</b>
Voorkomen van verontreiniging (art. 9)	Tegengaan van verontreiniging oppervlaktewater (art. 16) en grondwater (art. 17)	Voorkomen van verontreiniging (art. 1)	Maatregelen om de inbreng van verontreinigende stoffen in het grondwater te voorkomen (art. 6)

Tabel 1.1: relatie Krb en overige richtlijnen {*Knotters M. et al., 2007*}

Onder bodem wordt in de Krb verstaan: "alle grond tussen het aardoppervlak en het vaste gesteente". Het water in de verzadigde zone valt niet onder de werkingssfeer van de Krb. De werkingssfeer betreft alleen de vaste fase (art. 1 Krb). De KRW en de Krb sluiten elkaar dus uit. Een grote groep van gevaarlijke stoffen en gebieden vallen onder de werking van de Krb. Hierbij gaat het ook om de diffuse verontreinigingen in het landelijk gebied. Met gevaarlijke stoffen worden de stoffen bedoeld zoals aangegeven in de richtlijn 1999/45/EEG. In deze richtlijn wordt onder milieugevaarlijk verstaan (art. 2, lid 2o 1999/45/EEG): "stoffen en preparaten die, wanneer zij in het milieu terechtkomen, onmiddellijk of na verloop van tijd gevaar voor een of meer milieucompartmenten opleveren of kunnen opleveren". Onder stoffen wordt verstaan (art. 2, lid 1b 1999/45/EEG): "chemische elementen en hun verbindingen, zoals zij voorkomen in

*natuurlijke toestand of bij de productie ontstaan, met inbegrip van alle additieven die nodig zijn voor het behoud van de stabiliteit van het product en alle onzuiverheden ten gevolge van het productieproces, doch met uitzondering van elk oplosmiddel dat kan worden afgescheiden zonder dat de stabiliteit van de stof wordt aangetast of de samenstelling ervan wordt gewijzigd”{EG, 1999}.*

Eind 2007 is de Kaderrichtlijn Bodem afgewezen. Nederland stemde onder andere tegen. De belangrijkste reden die werd gegeven was, dat de bescherming van de bodem in Nederland al goed geregeld is. Verwacht wordt dat de richtlijn in 2008 of 2009 wordt aangenomen.

#### 1.1.5 Drinkwaterrichtlijn (98/83/EG)

De Drinkwaterrichtlijn heeft als doel “om de volksgezondheid te beschermen tegen schadelijke gevolgen van verontreiniging van voor menselijk consumptie bestemd water” (art. 1, lid 2 Drinkwaterrichtlijn). Om ervoor te zorgen dat het voor menselijk consumptie bestemde water gezond en schoon is, moeten lidstaten maatregelen nemen. Het voor menselijk consumptie bestemde water is gezond en schoon, wanneer “het geen micro-organismen, parasieten of andere stoffen bevat in hoeveelheden die gevaar voor de volksgezondheid kunnen opleveren” (art. 4, lid 1a Drinkwaterrichtlijn). Het voor menselijk consumptie bestemd water is water dat onbehandeld of na behandeling bestemd is voor koken, drinken, voedselbereiding en of andere huishoudelijke doeleinden. Hierbij maakt het niet wat de herkomst is en hoe het water wordt geleverd. De lidstaten moeten ervoor zorgen dat er kwaliteitseisen worden gesteld. In de Drinkwaterrichtlijn zijn in de bijlagen parameters opgenomen waaraan de kwaliteit van het drinkwater moet voldoen (art. 5, lid 1 Drinkwaterrichtlijn). Ook wanneer stoffen niet in de bijlagen zijn opgenomen, maar toch zorgen voor negatieve gevolgen, moeten lidstaten maatregelen nemen (art. 5, lid 3 Drinkwaterrichtlijn). De parameters in bijlage 1 en 2 van de Drinkwaterrichtlijn worden eens in de vijf jaar aangepast aan de vooruitgang van de Wetenschap en de techniek (art. 11 Drinkwaterrichtlijn).

#### 1.1.6 Wet bodembescherming

De Wet bodembescherming (Wbb) heeft in de eerste plaats als doel om de bodem te beschermen, zodat deze nu en in de toekomst kan worden benut door mens, dier en plant. Het belang van het beschermen van de bodem wordt weergegeven in artikel 1 van de Wbb. In art. 1 Wbb wordt aangegeven dat “hoedanigheden van de bodem die een vermindering of bedreiging betekenen van de functionele eigenschappen voor mens, plant of dier voorkomen, beperkt of ongedaan moeten worden gemaakt”. Onder bodem wordt “het vaste deel van de aarde bedoeld, met de zich daarin bevindende vloeibare en gasvormige bestanddelen en organismen” (art. 1 Wbb).

Een ernstige verontreiniging is volgens artikel 1 van de Wbb, “een verontreiniging waarbij de bodem zo erg wordt verontreinigd, dat de functionele eigenschappen die de bodem voor mens, plant en dier heeft, ernstig zijn of dreigen te worden verminderd” {Senternovem, 2008}.

Anders dan bij de Wet verontreiniging oppervlaktewateren, zijn diergeneesmiddelen niet expliciet meegenomen in de werkingssfeer van de Wbb. Er moet echter wel worden aangegeven dat er een algemene zorgplicht geldt (art. 13 Wbb). In de zorgplicht staat aangegeven dat: “een ieder die op of in de bodem handelingen verricht als bedoeld in de artikelen 6 tot en met 11 Wbb en die weet of redelijkerwijs had kunnen vermoeden dat door die handelingen de bodem kan worden verontreinigd of aangetast, is verplicht alle maatregelen te nemen die redelijkerwijs van hem kunnen worden gevergd, teneinde die verontreiniging of aantasting te voorkomen, dan wel indien die verontreiniging of aantasting zich voordoet, de verontreiniging of de aantasting en de directe gevolgen daarvan te beperken en zoveel mogelijk ongedaan te maken. Indien de

*verontreiniging of aantasting het gevolg is van een ongewoon voorval, worden de maatregelen onverwijld genomen”.*

### 1.1.7 Diergeneesmiddelenrichtlijn (2001/82/EG)

Het hoofddoel voor wat betreft de productie en distributie van diergeneesmiddelen is, de bescherming van de volksgezondheid (considerans 2 Diergeneesmiddelenrichtlijn).

De Diergeneesmiddelenrichtlijn is van toepassing op diergeneesmiddelen die op de markt zullen worden gebracht. Hierbij gaat het om diergeneesmiddelen in de vorm van geneesmiddelen, voorgemaakte geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik of voormengsels voor diervoeders met medicinale werking (art. 2 Diergeneesmiddelen-richtlijn).

De Diergeneesmiddelenrichtlijn is niet van toepassing op (art. 3 Diergeneesmiddelen-richtlijn):

- diervoeders met medicinale werking, zoals omschreven in Richtlijn 90/167/EEG. Deze diervoeder met een medicinale werking mogen alleen worden bereid uit voormengsels waarvoor aan de hand van de Diergeneesmiddelenrichtlijn een vergunning is afgegeven.
- geïnactiveerde immunologische geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik, die zijn gemaakt met behulp van pathogene organismen en antigenen afkomstig van een dier of dieren van hetzelfde bedrijf. En die weer gebruikt worden om dat dier of dat bedrijf in dezelfde plaats te behandelen.
- diergeneesmiddelen volgens „formula magistralis”.
- diergeneesmiddelen volgens „formula officinalis”.
- diergeneesmiddelen op basis van radioactieve isotopen.
- toevoegingmiddelen zoals bedoeld in Richtlijn 70/524/EEG.

In verband met de niet-geïnactiveerde immunologische diergeneesmiddelen die zijn gemaakt met behulp van pathogene organismen en antigenen afkomstig van een dier of dieren van hetzelfde bedrijf, mogen de lidstaten bepalen of de Diergeneesmiddelenrichtlijn niet van toepassing is. Hierbij gaat het om geneesmiddelen die weer gebruikt worden om dat dier of dat bedrijf in dezelfde plaats te behandelen (art. 4, lid 1 Diergeneesmiddelenrichtlijn). Antibiotica vallen onder de werking van de Diergeneesmiddelenrichtlijn. Sinds 2006 is het niet meer toegestaan om antimicrobiële groeibevorderaars toe te voegen aan het veevoer (volgens art. 11, 2e lid Verordening nr. 1831/2003/EG), met uitzondering van coccidiostatica en histomonostatica.

### 1.1.8 Diergeneesmiddelenwet

De Diergeneesmiddelenwet gaat over alle soorten diergeneesmiddelen. Hierbij worden geen geneesmiddelen buiten de reikwijdte van de wet gehouden. Wanneer instrumenten niet van toepassing zijn op bepaalde typen diergeneesmiddelen, wordt dit expliciet aangegeven in de wet {*Montforts et al., 2006*}. Antibiotica vallen onder de werking van de Diergeneesmiddelenwet.

## 1.2 Instrumenten vanuit de bodemkwaliteitsregelgeving

In deze paragraaf wordt gekeken welke instrumenten beschikbaar zijn vanuit de bodemkwaliteitsregelgeving. Hierdoor wordt bekend wat er onder andere gedaan kan worden wanneer er sprake is van een verontreiniging.

### 1.2.1 Oude Grondwaterrichtlijn (80/68/EG)

De maatregelen die moeten worden genomen in het kader van de zwarte stoffenlijst (Lijst 1), zijn opgenomen in artikel 4 van de oude Grondwaterrichtlijn. In dit artikel is beschreven dat de directe lozing van zwarte lijststoffen verboden dienen te worden. Hierbij moeten alle mogelijke technische maatregelen worden genomen om een lozing tegen te gaan. Daarnaast moeten de lidstaten alle passende maatregelen nemen om indirecte lozingen van lijst 1-stoffen te voorkomen (art. 4, lid 1 oude Grondwaterrichtlijn). Lidstaten mogen het lozen van grondwater met lijst 1-stoffen toestaan, als het blijkt dat het water blijvend ongeschikt is voor ander gebruik. Hierbij mogen deze stoffen het benutten van bodemschatten niet hinderen (art. 4, lid 2 oude Grondwaterrichtlijn) *{Montforts et al., 2006}*. Directe lozingen van lijst 2-stoffen en handelingen waarbij deze stoffen worden verwijderd of met het oog op verwijdering worden gestort en een indirecte lozing tot gevolg hebben, moeten op grond van artikel 5 van de oude Grondwaterrichtlijn aan een voorafgaand onderzoek worden onderworpen.

Bij een directe lozing van lijst 2-stoffen moeten alle technische voorzorgsmaatregelen worden genomen om een lozing te verhinderen. Maatregelen die worden genomen, aan de hand van deze richtlijn, mogen niet leiden tot een directe of indirecte verontreiniging van het grondwater zoals genoemd in artikel 1 van de oude Grondwaterrichtlijn (art. 18 oude Grondwaterrichtlijn). De twee lijsten kunnen op voorstel van de commissie worden gewijzigd. Hierbij wordt rekening gehouden met de opgedane ervaring (art. 20 oude Grondwaterrichtlijn).

### 1.2.2 De Kaderrichtlijn water (2000/60/EG)

De Kaderrichtlijn water beoogt een “goede chemische toestand” van het grondwater. Deze “goede toestand” uit de KRW kan worden gezien als een kwaliteitseis. Een kwaliteitseis wordt Europeesrechtelijk gezien als een resultaatverplichting, een harde eis. Hierdoor heeft Nederland zich er toe verplicht om de “goede toestand” op tijd te realiseren. De “goede chemische toestand” van het grondwater moet in 2015 gerealiseerd zijn. Om de “goede toestand” te bereiken, is er in de KRW een groot aantal instrumenten weergegeven. Hierbij gaat het onder andere over verboden, kwaliteitseisen, emissiegrenswaarden, vergunningen, plannen en financiële bepalingen *{Montforts et al., 2006}*.

### 1.2.3 Nieuwe Grondwaterrichtlijn (2006/118/EG)

In de nieuwe Grondwaterrichtlijn vindt de bescherming van het grondwater plaats door middel van stroomgebiedbeheersplannen, overeenkomstig artikel 13 KRW (art. 5, lid 4 nieuwe Grondwaterrichtlijn) *{Montforts et al., 2006}*.

### 1.2.4 Kaderrichtlijn Bodem (toekomst)

De Europese Kaderrichtlijn bodem (Krb) verplicht lidstaten tot het opstellen en uitvoeren van beleid. Dit beleid moet bescherming bieden tegen zeven bedreigingen:

1. erosie
2. verlies van organische stof
3. verontreiniging
4. verzilting
5. verdichting
6. afdekking
7. aardverschuivingen

Daarnaast is er in de Krb aangegeven dat het beleid om de zorg van de bodem moet worden meegenomen in een groot aantal sectoren. Hierdoor is de Krb breed van opzet. Veel van de punten die in de Krb worden genoemd zijn vergelijkbaar met het Nederlandse beleid. Hierbij gaat het onder meer om het voorkomen van bodemverontreinigingen. Daarnaast moeten volgens de Krb voorzorgmaatregelen worden genomen, wat betreft potentiële bodemvervuilers. In Nederland wordt hier invulling aan gegeven door vergunningen en Algemene Maatregelen voor te schrijven. Ook kent Nederland een algemene zorgplicht. Deze zorgplicht is onder andere opgenomen in de Wet Bodembescherming en de Wet Milieubeheer. Ook verplicht de Krb tot maatregelen om de opzettelijke of onopzettelijke introductie van gevaarlijke stoffen op of in de bodem te beperken.

De lidstaten moeten passende maatregelen nemen om de introductie van gevaarlijke stoffen in de bodem te beperken (art. 9 Krb). Deze aanpak is mogelijk in strijd met het Nederlandse beleid. In het Nederlandse beleid wordt sanering en hergebruik van licht verontreinigende grond namelijk flexibel ingepast in ruimtelijke en stedelijke ontwikkeling. Wanneer er een transactie plaatsvindt van een verontreinigende bodem, moet er volgens de Krb een bodemrapport worden opgesteld (art. 12 Krb). Het doel van dit rapport is, om de inventarisatie van verontreinigende locaties te bevorderen. In Nederland is deze inventarisatie al grotendeels gedaan, waardoor het bodemrapport voor Nederland weinig toegevoegde waarde heeft.

#### **1.2.5 Drinkwaterrichtlijn (98/83/EG)**

De Drinkwaterrichtlijn kent een aantal instrumenten. Allereerst worden er algemene verplichtingen gesteld aan de lidstaten om maatregelen te nemen die ervoor zorgen dat het drinkwater gezond en schoon is (art. 4 Drinkwaterrichtlijn). Daarnaast bevat de richtlijn een verplichting tot het stellen van kwaliteitseisen. Deze kwaliteit moet ook gecontroleerd worden. Als de voor het menselijk consumptie bestemde water niet aan de in artikel 5 vastgestelde parameters voldoet, zorgen de lidstaten zo spoedig mogelijk voor de nodige herstelmaatregelen (art. 8, lid 2 Drinkwaterrichtlijn).

#### **1.2.6 Bescherming bodem/grondwaterkwaliteit naar het nationale recht**

De regels die zijn opgenomen in de oude Grondwaterrichtlijn en de Kaderrichtlijn bodem, zijn/worden onder meer geïmplementeerd in de Wbb. Regelgeving vanuit de Wbb vindt vooral plaats doormiddel van algemene regels (AmvB's). Verder kan een vergunning op grond van de Wm voorschriften bevatten voor de bescherming van het grondwater.

Om de bodem te beschermen tegen handelingen waarbij stoffen op of in de bodem worden geloosd en daarbij de bodem verontreinigen of aantasten, kunnen bij of krachtens algemene maatregel van bestuur regels worden gesteld (art 6, lid 1 Wbb).

Als stoffen aan de bodem worden toegevoegd en zij de structuur of de kwaliteit van de bodem beïnvloeden, kunnen regels worden opgesteld (art. 7, lid 2 Wbb).

De Wbb kan verplichten (krachtens de artikelen 6 tot en met 12a) om metingen, registraties of controles te verrichten om gegevens te verkrijgen die te maken hebben met een in de bodem gebrachte, geraakte of getransporteerde stof (art. 17 Wbb). Hierbij moet ook worden onderzocht wat de mogelijke invloed is van een stof op de bodem. Bij deze metingen, registraties of controles, maakt het niet uit of de stoffen op grond van een risicoberekening voor de EU prioriteit hebben.

Het belangrijkste instrument vanuit het nationale beleid voor wat betreft de bodem en het grondwater, is het Lozingenbesluit Bodem (Lbb). In het Lbb wordt de lozing van vloeistoffen in de bodem gereguleerd. Het Lbb vindt zijn oorsprong in artikel 6 van de Wbb. Volgens artikel 1 Lbb wordt onder lozing verstaan: "het definitief in de bodem brengen of doen brengen van

vloeistoffen". Het besluit heeft betrekking op lozingen of in de bodem van huishoudelijk afvalwater, koelwater en bedrijfsafvalwater. Hierdoor is het Lbb in dit onderzoek van belang, als de te lozen vloeistoffen diergeneesmiddelen kunnen bevatten. Het besluit is niet van toepassing op lozingen waarop voorschriften gelden zoals aangeven in art. 7 Wbb, met betrekking op het gebruik van dierlijke mest. Dit betekent dat het besluit niet van toepassing is voor zover meststoffen restanten van diergeneesmiddelen bevatten. Daarnaast is in jurisprudentie van het Hof van Justitie (C-416/02) bepaald dat mest die op de bodem wordt gebracht geen afvalstof is {EHJ, 2005<sup>2</sup>}. Hierdoor is het storten van mest op of in de bodem niet gereguleerd in het Stortbesluit bodembescherming en in artikel 10.2 Wm {Montforts et al., 2006}.

Voor wat betreft de bescherming van de bodem en het grondwater is meer regelgeving relevant dan bijvoorbeeld de Wbb. Hierbij valt te denken aan de Nitraatrichtlijn. De Nitraatrichtlijn heeft als doel om onder andere het grondwater te beschermen tegen verontreinigingen met nitraten (art. 1 Nitraatrichtlijn). De nitraatrichtlijn reguleert niet in het algemeen de verontreinigingen van meststoffen. Verontrustend is daarom de uitspraak van het Hof van Justitie van 8 september 2005 in zaak C-121/03 {EHJ, 2005<sup>1</sup>}:

*"101 Ten tweede, zelfs als het uitspreiden van mest op of in de bodem een schadelijk effect heeft op de smaak en/of de geur van grondwater en een waterverontreiniging kan veroorzaken, is het stelsel van bescherming van het water tegen verontreiniging door dierlijke mest, op Gemeenschapsniveau, niet geregeld in de Grondwaterrichtlijn, maar de Nitraatrichtlijn. De Nitraatrichtlijn richt zich immers specifiek op de beheersing van waterverontreiniging die het gevolg is van het opbrengen of lozen van dierlijke mest en een bovenmatig gebruik van meststoffen. Het beschermstelsel waarin zij voorziet omvat nauwkeurige beheersmaatregelen die de lidstaten aan de landbouwers moeten opleggen en die rekening houden met de meer of mindere kwetsbare aard van de omgeving waarin de mest terechtkomt.*

*102 Als artikel 5 van de Grondwaterrichtlijn zou worden geïnterpreteerd, dan moeten lidstaten elk gebruik van drijfmest of, meer algemeen, dierlijke mest als landbouwstof, aan een uitgebreid onderzoek, met name een geohydrologisch onderzoek, onderwerpen. Dit zou resulteren in omvangrijke onderzoeksverplichtingen, ongeacht de betrokken zone. Deze verplichtingen zouden klaarblijkelijk strenger zijn dan die door de Gemeenschapswetgever bij Richtlijn 91/676 (Nitraatrichtlijn) aan de lidstaten op landbouwgebied heeft willen opleggen. Het beschermstelsel van de Grondwaterrichtlijn zou dan gedeeltelijk in de plaats komen van de specifiek bij de Nitraatrichtlijn ingevoerde regeling.*

*103 Een dergelijke constructie van de Grondwaterrichtlijn kan niet worden aanvaard."*

Het cursief beschreven gedeelte is letterlijk vertaald uit de uitspraak van het Hof van Justitie van 8 september 2005. Uit de uitspraak van het Hof van Justitie is op te maken dat de Nitraatrichtlijn het exclusieve kader is, voor wat betreft een waterverontreiniging. Waarbij het niet duidelijk is of het om grond- en/of oppervlaktewater gaat. Als de Nitraatrichtlijn het exclusieve toetsingskader vormt, ontbreekt er op Europees niveau deels regelgeving voor grondwaterbescherming. In mest komen namelijk niet alleen meststoffen voor, er kunnen bijvoorbeeld ook antibiotica in zitten.

De Nitraatrichtlijn wordt niet ingetrokken wanneer de KRW in werking treedt. Als de Nitraatrichtlijn het exclusieve kader blijft, dan kan worden aangenomen dat niet aan de doelstelling van de KRW wordt voldaan. Aangezien sinds de inwerkingtreding in 1991 van de Nitraatrichtlijn, de waterverontreiniging met nitraten is toegenomen, in plaats van afgenomen {Montforts et al., 2006}.



### 1.3 Instrumenten vanuit de bodemkwaliteitsregelgeving

In het kader van registratieprocedures stelt de Europese diergeneesmiddelenregeling nadrukkelijk eisen voor wat betreft de beoordeling van de ecotoxicologische effecten van diergeneesmiddelen. De onderstaande paragrafen gaan in op de criteria voor registratie, de verantwoordelijkheden van het bevoegde gezag en de instrumenten die het bevoegde gezag kan inzetten om de doelstellingen te halen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt in Europese en nationale registratieprocedures.

Er zijn veel eisen beschreven in de Europese en Nederlandse regelgeving, waaraan diergeneesmiddelen moeten voldoen. Deze eisen worden niet allemaal behandeld. De eisen die vooral van belang zijn voor dit onderzoek hebben te maken met de beoordeling van de ecotoxicologische effecten. Verder moet worden aangegeven dat de werkingssfeer van de diergeneesmiddelenregelgeving allereerst wordt bepaald door de begrippen die in deze regelgeving zijn beschreven.

#### 1.3.1 Registratieprocedure

##### Europees

Op Europees niveau zijn de belangrijkste actoren voor wat betreft de diergeneesmiddelenbeoordeling: de Commissie en het Comité voor geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik, dat ressorteert onder het Europees Bureau voor de diergeneesmiddelenbeoordeling. De Commissie is op grond van Verordening 726/2004/EG bevoegd gezag {*Montforts et al., 2006*}. Verordening 726/2004/EG behandelt de Europese registratieprocedure voor diergeneesmiddelen. Zij heeft als doel *“de vaststelling van communautaire procedures voor het verlenen van vergunningen, het toezicht en de diergeneesmiddelenbewaking met betrekking tot onder andere diergeneeskundig gebruik, alsmede de oprichting van een Europees Geneesmiddelenbureau”* (art. 1 Verordening 726/2004 EG).

Wanneer een geneesmiddel in de bijlage van de Verordening wordt genoemd, mag deze in de handel worden gebracht als de Gemeenschap een vergunning heeft gegeven (art 3, lid 1 Verordening 726/2004 EG). De Gemeenschap kan een vergunning verlenen voor een niet in de bijlage genoemd geneesmiddel, als (art. 3, lid 2 Verordening 726/2004 EG):

- *“het geneesmiddel een nieuw actief bestanddeel bevat waarvoor op de datum van inwerkingtreding van deze Verordening in de Gemeenschap geen vergunning bestond.”*
- *“de aanvrager aantoont dat dit geneesmiddel een belangrijke innovatie uit therapeutisch, wetenschappelijk of technisch oogpunt inhoudt of dat de afgifte van een vergunning in overeenstemming met deze verordening voor de diergezondheid op communautair niveau van belang is.”*

De aanvraag voor het verkrijgen van een vergunning in verband met het in de handel brengen van een diergeneesmiddel wordt bij het Europees Geneesmiddelenbureau gedaan (art. 4, lid 1 Verordening 726/2004 EG). Er wordt een vergunning verleend door de Gemeenschap wanneer aan de onderstaande voorwaarden wordt voldaan.

Wanneer farmacologisch werkzame stoffen zijn opgenomen in bijlage I, II, III van Verordening 2377/90/EEG, kan een vergunning worden afgegeven. Hierbij gaat het om diergeneesmiddelen die nodig zijn bij de productie van voor levensmiddelen bestemde diersoorten (art. 6 Diergeneesmiddelenrichtlijn). Oxytetracycline en sulfamethoxazole zijn in deze lijst opgenomen. Het Comité beoordeelt de aanvraag (art. 32 Verordening 726/2004 EG). De vergunning wordt na onderzoek geweigerd als blijkt dat (art. 37 Verordening 726/2004 EG):

- de werkzaamheid, de veiligheid of de kwaliteit van het diergeneesmiddel niet behoorlijk en voldoende door de aanvrager is aangetoond,
- bij zootecnische diergeneesmiddelen en bij rendementverhogende middelen onvoldoende rekening is gehouden met de gezondheid en het welzijn van de dieren en/of de veiligheid van de consument,
- de door de aanvrager aanbevolen wachttijd niet lang genoeg is om te waarborgen dat levensmiddelen die uit de behandelde dieren zijn verkregen, vrij zijn van residuen die een risico voor de gezondheid van de consument kunnen inhouden,
- het geneesmiddel door andere bepalingen van het Gemeenschapsrecht wordt verboden,
- de ingediende gegevens onvolledig of onjuist zijn.

De Gemeenschap houdt toezicht op de vergunningverlening (art 4, lid 3 Verordening 726/2004 EG). Wanneer een vergunning geldig is, is deze geldig voor de hele Gemeenschap. Het diergeneesmiddel wordt ingeschreven in het geneesmiddelenregister als de Commissie de registratie verleent (art. 38, lid 1 Verordening 726/2004 EG). Het Europees Geneesmiddelenbureau publiceert het beoordelingsrapport van het Comité. De "European Public Assessment Reports" (EPAR's) bevatten een sectie over met name de voorwaarden van het gebruik van het geneesmiddel (art. 38 Verordening 726/2004 EG).

### Nationaal

Op Nationaal niveau zijn de belangrijkste actoren voor wat betreft de diergeneesmiddelenbeoordeling, de ministers van LNV en VWS, het Bureau Diergeneesmiddelen en de Commissie registratie Diergeneesmiddelen (CRD).

De bevoegde gezagen op Nationaal niveau zijn de ministeries van LNV en VWS.

Voor wat betreft de registratie van diergeneesmiddelen op Nationaal niveau voorzien de Diergeneesmiddelenwet en de Diergeneesmiddelenrichtlijn in drie instrumenten:

- de vergunningplicht
- de kanalisatieregeling
- de wederzijdse vergunningerkenning

Bij de registratie van de diergeneesmiddelen vindt er een milieubeoordeling plaats.

De instrumenten en de milieubeoordeling worden hieronder verder behandeld *{Montforts et al., 2006}*.

### **De vergunningplicht**

In een lidstaat mag een diergeneesmiddel alleen in gebruik worden genomen, als door de bevoegde autoriteit van de lidstaat een vergunning is afgegeven. Deze vergunning moet overeenkomstig de Diergeneesmiddelenrichtlijn of de Verordening 726/2004 EG zijn (art. 5 Diergeneesmiddelenrichtlijn). Bij de aanvraag van diergeneesmiddelen worden uitvoerige eisen gesteld (art. 12, lid 3 Diergeneesmiddelenrichtlijn).

Voor wat betreft de Diergeneesmiddelenwet, zijn de richtlijnverplichtingen opgenomen in hoofdstuk 2. In artikel 2 van de Diergeneesmiddelenwet is opgenomen dat *"het verboden is om een diergeneesmiddel dat niet staat geregistreerd, te bereiden, voorhanden of in voorraad te hebben, of te leveren of bij dieren toe te passen"*. Dit verbod geldt niet voor diergeneesmiddelen waarvoor een Europese registratieprocedure is doorlopen *{Montforts et al., 2006}*. Hier wordt van verwacht dat ze ook zijn geregistreerd op grond van de Diergeneesmiddelenwet. Wanneer substanties waarvan het gebruik als geneesmiddel in het belang van de volksgezondheid ongewenst is, komt deze niet in aanmerking voor registratie (art. 5 Diergeneesmiddelenwet).

De aanvraagprocedure voor een diergeneesmiddel is geregeld in de Diergeneesmiddelenregeling. Een aanvraag voor een diergeneesmiddel wordt ingediend bij Bureau Diergeneesmiddelen (art. 4, lid 1 Diergeneesmiddelenregeling). Deze aanvraag bestaat uit een dossier, die gegevens bevat zoals aangegeven is in artikel 12, lid 3 in samenhang met bijlage 1 van de

*Consortiumleden: Vewin, Fidin, LTO, Ministerie LNV, Ministerie VROM (bodem en water), Provincie Drenthe, KNMvD, Iras, Alterra, CML, Ducares, TNO/Deltares, Geofox-Lexmond*

*Bijlagen*



Diergeneesmiddelenrichtlijn. Hierin wordt aangegeven dat bij de aanvraag van een vergunning voor een diergeneesmiddel onder andere de volgende gegevens bijgevoegd moeten worden:

- kwalitatieve en kwantitatieve samenstelling van alle bestanddelen (art. 12, lid 3c Diergeneesmiddelenrichtlijn).
- resultaten van fysisch-chemische, biologische of microbiologische, toxicologische en farmacologische en klinische proeven.

De registratiebeschikking wordt toegezonden aan de CRD. Via een beoordelingsrapport beoordeelt de CRD de registratiebeschikking (art. 25, lid 3 Diergeneesmiddelenrichtlijn). Dit beoordelingsrapport wordt telkens bijgewerkt wanneer er nieuwe gegevens over het product beschikbaar zijn (art. 25, lid 4 Diergeneesmiddelenrichtlijn). Wanneer een product geweigerd wordt, wordt de informatie voor het publiek toegankelijk gemaakt (art. 37, lid 3 Verordening 726/2004 EG).

#### *Kanalisieregeling*

Het begrip kanalisatie is niet direct opgenomen in de Diergeneesmiddelenrichtlijn. Toch zijn er een aantal bepalingen opgenomen die aan de basis liggen van het kanalisatieregime, zoals deze is opgenomen in de nationale wetgeving. Allereerst mogen groothandelaren diergeneesmiddelen alleen aan personen leveren (art. 65 Diergeneesmiddelenrichtlijn) die:

- diergeneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik mogen verstrekken
- toestemming hebben gekregen om diergeneesmiddelen te mogen ontvangen.

Wanneer het gaat om voor consumptie geldende dieren, mogen lidstaten bepalen dat aan anderen wordt geleverd (art. 66, lid 3 Diergeneesmiddelenrichtlijn).

Verder moeten lidstaten de benodigde maatregelen treffen om ervoor te zorgen dat alleen de personen, genoemd in de eigen nationale wetgeving, gemachtigd zijn om een diergeneesmiddel te gebruiken (art. 68 Diergeneesmiddelenrichtlijn).

De kanalisatieregeling is niet opgenomen in de Diergeneesmiddelenwet. In de Diergeneesmiddelenregeling wordt echter wel melding gemaakt van kanalisatie.

De betekenis van kanalisatie kan kort worden omschreven als, de manier waarop geneesmiddelen de weg vinden van fabrikant naar het dier.

In de kanalisatieregeling zijn vier categorieën van belang *{Min. van LNV, 2007}*:

- UDD: diergeneesmiddelen die uitsluitend door de dierenarts mag worden toegepast.
- UDA: diergeneesmiddelen die op voorschrift van een dierenarts, door dierenartsen of apothekers worden afgeleverd en door de veehouder zelf toegediend mogen worden.
- URA: diergeneesmiddelen die op voorschrift van een dierenarts, door dierenartsen, apothekers of erkende handelaren worden afgeleverd en door de veehouder zelf toegediend mogen worden.
- VRIJ: diergeneesmiddelen zonder tussenkomst van een dierenarts verkrijgbaar bij dierenartsen, apothekers of erkende handelaren en door de veehouder zelf toegediend mogen worden.

De kanalisatiebepaling geldt voor diergeneesmiddelen die onder andere schade kunnen opleveren voor het milieu, zonder tussenkomst van de dierenarts (art. 29 Diergeneesmiddelenwet en art. 77 Diergeneesmiddelenregeling).

De doelstelling is het waarborgen van een zorgvuldige omgang met diergeneesmiddelen door tussenkomst van de dierenarts te verplichten. Dit betekent dat de dierenarts als poortwachter functioneert. Daarbij is de dierenarts onafhankelijk en autonoom.

Antibiotica vallen onder UDD of UDA *{Min. van LNV, 2007}*.

#### *Wederzijdse erkenning*

De wederzijdse erkenning van registratiebesluiten is onder andere weergegeven in considerans 7 van de Diergeneesmiddelenrichtlijn. Hierin staat weergegeven dat: wanneer een vergunning is

afgegeven door een bevoegde autoriteit in een lidstaat voor het in de handel brengen van een diergeneesmiddel, deze geldig is in alle lidstaten. Wanneer er een verschil in mening is tussen lidstaten over de kwaliteit, de veiligheid of de werkzaamheid van een geneesmiddel, behoort er op gemeenschapsniveau een wetenschappelijke beoordeling plaats te vinden (art. 33 Diergeneesmiddelenrichtlijn).

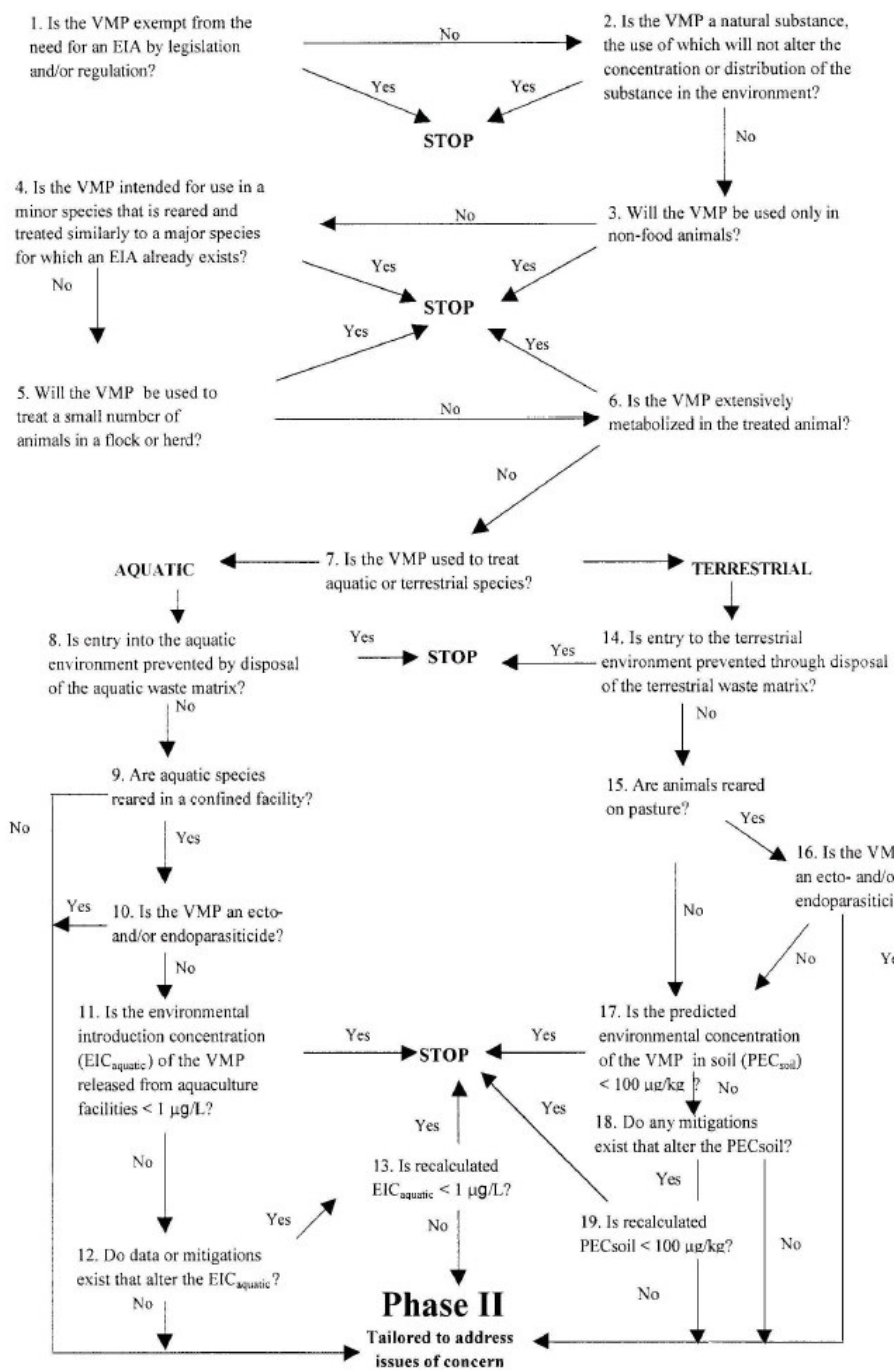
### 1.3.2 Milieubeoordeling

Het dossier voor de aanvraag van een vergunning voor het in de handel brengen van een diergeneesmiddel moet alle administratieve en wetenschappelijke documentatie bevatten waarmee de kwaliteit, de veiligheid en de werkzaamheid van een diergeneesmiddel kan worden aangetoond. Hierbij gaat het onder andere over de mogelijke risico's die het diergeneesmiddel kan hebben voor het milieu en de gezondheid van mensen, dieren en planten.

De ecotoxicologische beoordeling van een diergeneesmiddel omvat normaal twee fasen. In de eerste fase wordt de mate van eventuele blootstelling van het geneesmiddel, de werkzame stoffen of metabolieten aan het milieu onderzocht. Wanneer het blijkt dat het milieu wordt blootgesteld aan het diergeneesmiddel, komt een tweede onderzoeksfase aan de orde. In de tweede fase wordt aan de hand van de beschikbare gegevens bekeken of een nader onderzoek nodig is. Hierbij wordt onderzoek gedaan naar de levensloop, de duur van blootstelling aan het milieu en de toxicologische en/of fysische/chemische eigenschappen van de stof. Wanneer het nodig is, wordt verder onderzoek verricht naar de uitwerking van het diergeneesmiddel op het milieu *{Montforts et al., 2006}*. Deze milieubeoordeling is geconcretiseerd in Guidance Documents. Net als in de Diergeneesmiddelenrichtlijn wordt onderscheid gemaakt in twee fasen. De eerste fase is uitgewerkt in 'Guideline on environmental impact assessment (EIAs) for veterinary medicinal products - phase I' *{VICH, 2000}*. Het bestaat uit een globale blootstellingsinschatting op basis van rekenmodellen. Wanneer de drempelwaarde van 100 µg/kg in de bodem wordt overschreden is een verfijnde blootstelling- en risicoschatting nodig. Er is geen drempelwaarde voor mest en grondwater. De tweede fase is uitgewerkt in 'Environmental impact assessment for veterinary medicinal products - phase II'. Het doel van de tweede fase is om inzicht te geven in de wijze van uitvoering van een milieubeoordeling. Het document bevat aanbevelingen en geen stijve bepalingen. Naast de dienst als gemeenschappelijke basis voor de beoordeling van het milieueffect, geeft het document inzicht in het type van informatie die nodig is om het milieu te beschermen *{VICH, 2003}*. Wanneer blijkt dat de kwaliteit, de veiligheid of de werkzaamheid van een diergeneesmiddel niet voldoende door de aanvrager is aangetoond, kan deze geweigerd worden (art. 37 Verordening 726/2004 EG). Hierbij vallen de ecotoxicologische effecten onder de veiligheidseisen.

Hieronder volgt een beknopte samenvatting van de procedure voor een milieurisico-analyse. Een ERA voor diergeneesmiddelen wordt uitgevoerd in twee fasen. Allereerst wordt bepaald of er een ERA nodig is (figuur 1.1) *{Volledig uit: Universiteit Leiden, 2008}*.

### Phase I Decision Tree



Figuur 1.1: Fase I van de milieurisicoanalyse voor diergeneesmiddelen {EMEA, 2007}  
In de Fase I vindt uiteindelijk een schatting van de belasting plaats (PEC) op basis van de worst-case scenario's.

Berekening van de PEC gebeurt aan de hand van een aantal standaard formules, waarbij onderscheid wordt gemaakt tussen bijvoorbeeld dieren op stal en weidedieren.

Voor weidedieren is de formule bijvoorbeeld (Spaepen et al., 1997):

$$PEC = (D \times Ad \times Bw \times SD \times Fh) / (1500 \times 10000 \times 0.05) \times 100$$

*PEC = predicted environmental concentration*

*D = Dosis*

*Ad = aantal dosis*

*Bw = lichaamsgewicht*

*Sd = veedichtheid*

*Fh = percentage behandeld vee*

*1500 = bodemdichtheid in kg/m<sup>3</sup>*

*10000 = aantal m<sup>2</sup> in een ha*

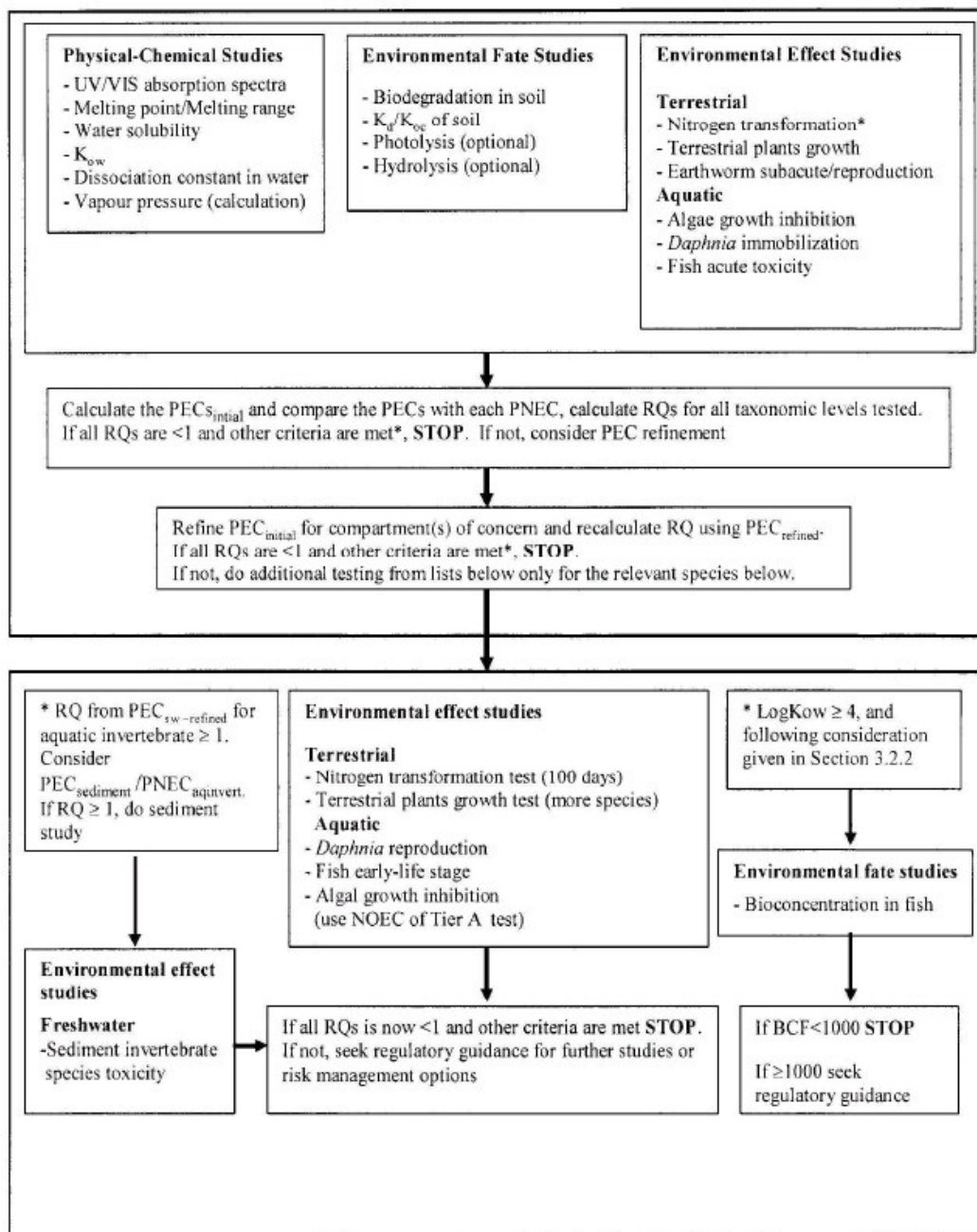
*0.05 = diepte bodemlaag in meters*

*1000 = omrekenen naar microgram/kg bodem*

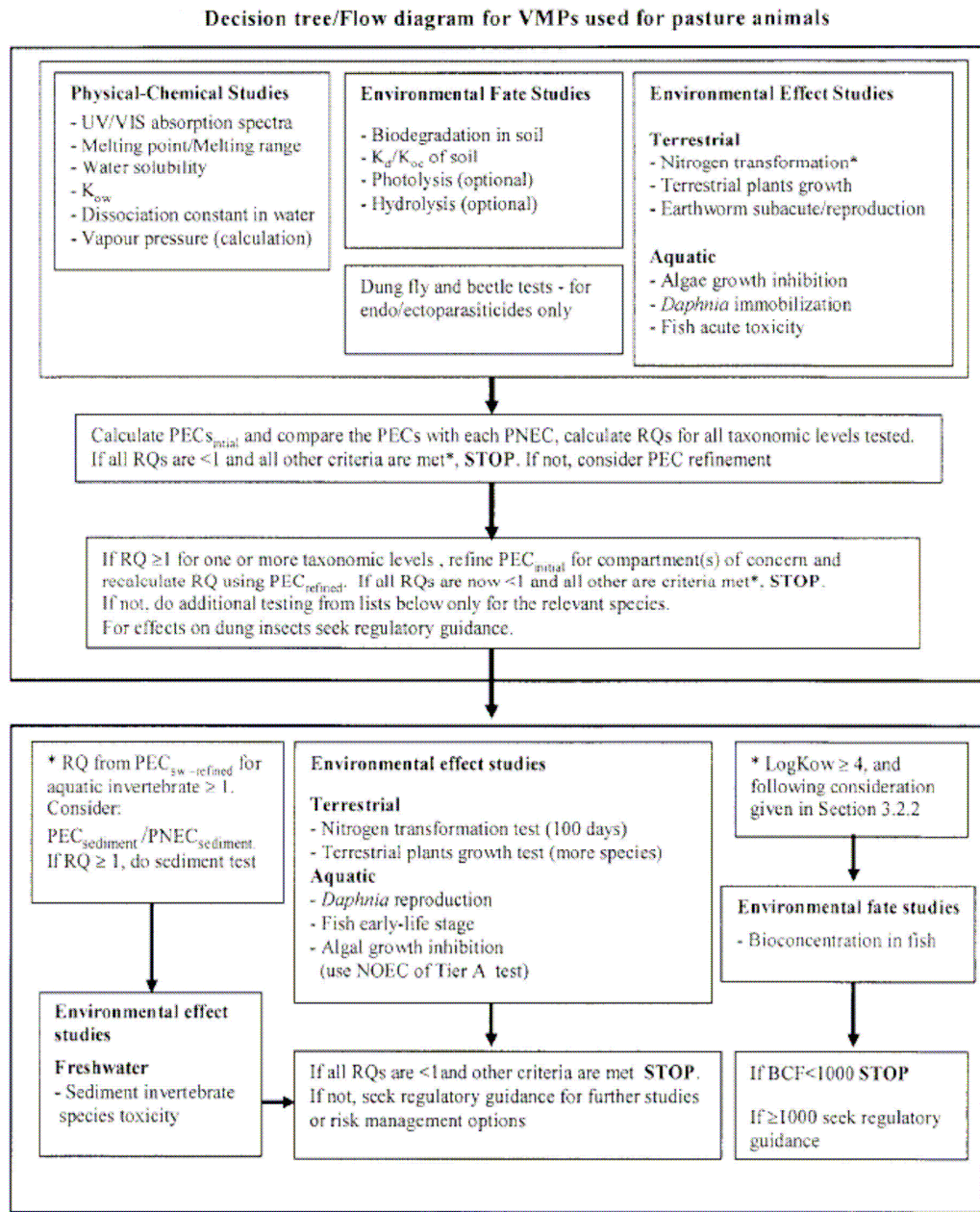
In de berekening wordt alleen rekening gehouden met de basisstof, de metabolieten worden niet meegenomen. Als de PEC uitkomt boven de "trigger-waarde" van 100 microgram/kg bodem, dan wordt een ERA vervolgd met een fase II. Deze "trigger-waarde" is gebaseerd op ecotoxicologisch onderzoek naar de acute effecten van met name antibiotica.

Fase II van de ERA bestaat uit twee onderdelen: Tier A en Tier B. In figuur 1.2 en 1.3 is Fase II weergegeven voor dieren in de intensieve veehouderij en voor weidedieren.

Decision tree/Flow diagram for VMPs used for intensively-reared animal systems



Figuur 1.2: Fase II, Tier A (boven) en Tier B (beneden) van de milieurisicoanalyse voor diergeneesmiddelen voor intensieve veehouderijen [VICH, 2007]



Figuur 1.3: Fase II, Tier A (boven) en Tier B (beneden) van de milieurisicoanalyse voor diergeneesmiddelen voor intensieve veehouderijen {VICH, 2007}

In Tier A (bovenste delen Figuur 1.2 en 1.3) worden in de eerste plaats de fysisch-chemische karakteristieken (waaronder persistentie) bepaald. Daarnaast wordt de "no-effect concentration" (PNEC) bepaald op basis van acute effecten (bodem: micro-organismen; vaatplanten, regenwormen en bij stoffen met insecticide werking (zoals ivermectine): mestkever + mestvlieg/springstaart; oppervlaktewater: alg, vlo, vis). Met onzekerheden in de ecotoxicologische gegevens (vertaling van lab naar veld, vertaling van de ene soort naar de



nadere soort, e.d.) wordt rekening gehouden door de PNEC te delen door een factor 10-1000 ("assessment factor"). Uiteindelijk wordt de risicoquotient bepaald:  $RQ = PEC/PNEC$ . Als de RQ groter is dan 1, dan wordt een verfijnde PEC-berekening uitgevoerd ("realistic worstcase"). Hierbij wordt o.a. rekening gehouden met afbraak in dieren, mest/gier, bodem en oppervlaktewater. Als de RQ met een verfijnde PEC nog steeds groter is dan 1, moet de ERA worden vervolgd met Tier B.

In Tier B (onderste delen Figuur 5 en 6) wordt een PNEC bepaald op basis van chronische effecten (bodem: regenworm, meerdere vaatplanten, micro-organismen; oppervlaktewater: alg, vlo, vis en muggenlarve in geval van waterbodem). Ook wordt het risico op bioaccumulatie bepaald aan de hand van de log Kow (als  $> 4$  dan risico). Als de RQ nog steeds boven de 1 uitkomt dan dienen er vervolgstudies te worden gedaan naar blootstelling en effecten (veld, uitspoeling e.d.) en/of naar mitigerende maatregelen. Bij een vaste combinatie van werkzame stoffen moet een gecombineerde PEC en PNEC worden berekend. Er is echter geen norm of triggerwaarde voor de combinatie van individuele geneesmiddelen (vergelijk de combinatienorm voor drinkwater voor bestrijdingsmiddelen).

### 1.3.3 Openbaarheid van milieu-informatie bij registratie van (dier)geneesmiddelen

Vaak wordt door de industrie, uit commercieel belang, het volledige milieuonderzoek geheim gehouden. De gegevens die worden verkregen voor wat betreft de milieueigenschappen van diergeneesmiddelen, is echter niet volledig geheim. Een samenvatting van milieustudies van diergeneesmiddelen kan door het College ter Beoordeling van Geneesmiddelen openbaar worden gemaakt. Deze conclusie werd door het RIVM getrokken na de analyse van onder andere het Verdrag van Aarhus, de Richtlijn 2003/4/EG en de Wet openbaarheid van bestuur *{Montforts et al., 2007}*. Een samenvatting met de eindconclusies (bijvoorbeeld de NOEC's en de halfwaardetijd voor de afbraak in de bodem) heeft weinig commerciële waarde. Het publieke belang is echter erg groot, wanneer het gaat om de volksgezondheid.

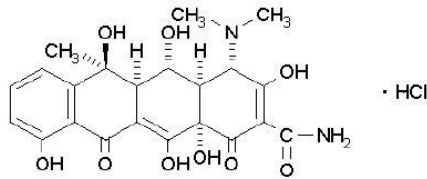
## **Bijlage 2: Antibioticagebruik**



## 2.1 Typen antibiotica

De diverse groepen antibiotica hebben een verschillende werking en chemische structuur. De belangrijkste / meest gebruikte groepen antibiotica zijn hieronder beschreven.

### Tetracyclinen:



Figuur 2.1 structuurformule tetracyclinen {Schmitt, 2005<sup>1</sup>}

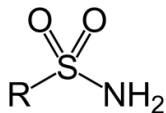
Tetracyclinen is een groep bacterieremmende antibiotica. De belangrijkste tetracyclinen zijn:

- Tetracycline
- Oxytetracycline
- Chloortetracycline
- Doxycycline
- Minocycline
- Methacycline

Deze stoffen remmen de bacteriële eiwitsynthese. Dit doen ze door de vereniging van het Aminoacyl-tRNA met het bacterieribosoom te verhinderen.

Tetracyclinen worden gevormd door *streptomyces spp.* De stoffen worden vooral veelvuldig gebruikt bij de behandeling van respiratoire en intestinale aandoeningen bij dieren. De toediening van de stoffen is meestal oraal {FIDIN, 2008}

### Sulfonamiden:



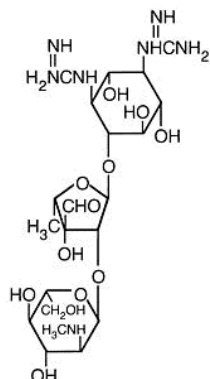
Figuur 2.2 Sulfonamide-groep {Schmitt, 2005<sup>1</sup>}

Sulfonamiden is een groep antibiotica met een bacterieremmende werking. De belangrijkste sulfonamiden zijn:

- Sulfamethoxazole
- Sulfachloropyridazine
- Sulfadimidine
- Sulfadiazine

Sulfonamiden zorgen ervoor dat de groei van de bacteriën wordt vertraagd. Dit doen ze door in de bacterie de synthese van foliumzuur te blokkeren. Hierdoor gaan de cellen in de bacteriën dood. Sulfonamiden worden tegenwoordig vaak samen gebruikt met trimethoprim. Trimethoprim zorgt er ook voor dat de synthese van foliumzuur wordt geremd {CVZ, 2008}.

*Aminoglycosiden:*

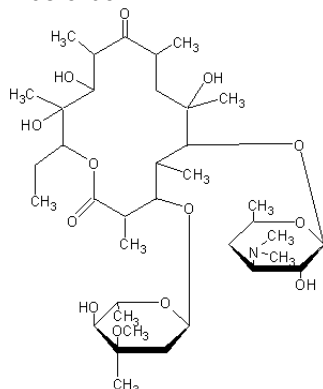


*Figuur 2.3 streptomycine, een aminoglycoside*

Aminoglycosiden zorgen ervoor dat de bacteriën snel dood gaan, door de eiwitsynthese van bacteriën te remmen. Dit doen ze door zich te binden aan het 30S-ribosoom. Hierdoor wordt de vorming van het initiatiecomplex geremd. Door de blokkering kan er minder eiwit gevormd worden en worden er onvolledige eiwitten aangemaakt. De belangrijkste aminoglycosiden zijn:

- Framycetine
- Neomycine
- Streptomycine
- gentamicine
- tobramycine
- netilmicine
- amikacine

*Macroliden:*



*Figuur 2.4 erythromycine, een macrolide*

Macroliden doden de meest gevoelige bacteriën, bij hoge concentraties. De macroliden hebben een vergelijkbare werking als de aminoglycosiden. Een macrolide blokkeert het 50S-ribosoom. Hierdoor kunnen de cellen geen polypeptide aanmaken, wat nodig is om eiwitten te vormen. De belangrijkste macroliden zijn:

- tylosin
- erythromycine
- clarithromycine
- azithromycine

## 5.2 Antibioticagebruik per sector in Nederland

In deze bijlage zijn de monitoringgegevens opgenomen (figuren 2.5, 2.6 en 2.7) die het LEI heeft verzameld. Hierbij gaat het om het antibioticagebruik op diverse boerderijen. De waarden zijn weergegeven in dagelijkse doseringen per dier, per jaar (dd/ay).

- De dagelijkse doseringen (dd's) worden berekend door (voorbeeld):

1 liter Baytril 10% (100 mg/ml) wordt gebruikt voor de behandeling van pluimvee. 10 mg/kg is de toegelaten hoeveelheid. Hierdoor kunnen er 10000 doseringen uit 1 liter Baytril 10% (100 mg/ml) worden gehaald om een kilo kip te behandelen. Een kip weegt ongeveer 1 kg. Hierdoor kunnen 10000 kippen per dag worden behandeld, of wel 10000 dd's.

$$100 \text{ mg/l} = 100.000 \text{ mg/L(kg)}$$

10 mg/kg is toegestaan

$$100.000/10 = 10000 \text{ doseringen}$$

- Onder het dierlijke jaar (ay) wordt verstaan:

Voor één varken wordt het hele jaar door het antibioticagebruik wordt gemeten. Het varken wordt echter binnen 6 maand geslacht. Ondanks dat het varken geslacht is, wordt verondersteld dat er één jaar een varken aanwezig was. Hierdoor is de potentieel blootgestelde populatie (groepsrisico) één varkensjaar.

Therapeutic group	Active substance	Fattening pigs		sows and piglets	
		2004	2005	2004	2005
Penicillines	Benzylpenicillin	0,29	0,30	0,93	0,77
	Ampicillin	0,12	0,12	0,85	0,80
	Amoxicillin	0,04	0,01	1,63	3,27
	<b>Total</b>	<b>0,45</b>	<b>0,43</b>	<b>3,41</b>	<b>4,84</b>
Cephalosporines	Cefquinome	0	0	0,01	0,02
	Ceftiofur	0	0	0,01	0,02
	<b>Total</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0,02</b>	<b>0,04</b>
Macrolides	Tilmicosin	0,09	0,03	0,27	0,56
	Tylosin	0,55	1,12	0,25	0,17
	Tulathromycine	-	0,01	-	0,05
	<b>Total</b>	<b>0,64</b>	<b>1,16</b>	<b>0,52</b>	<b>0,78</b>
Quinolones	Flumequine	0	0	0,19	0,28
	Enrofloxacin	0,01	0,01	0,02	0,04
	<b>Total</b>	<b>0,01</b>	<b>0,01</b>	<b>0,21</b>	<b>0,32</b>
Sulphonamides and trimethoprim	Tmp-sulfadiazine	0,63	1,09	4,77	2,13
	Tmp-sulfadoxine	0	0	0,16	0,07
	Tmp-sulfamethoxazole	0,38	0,56	3,97	4,38
	<b>Total</b>	<b>1,01</b>	<b>1,65</b>	<b>8,90</b>	<b>6,58</b>
Tetracyclines	Doxycycline	5,33	5,00	2,32	3,72
	Oxytetracycline	4,92	5,34	5,77	5,73
	<b>Total</b>	<b>10,25</b>	<b>10,34</b>	<b>8,09</b>	<b>9,45</b>
Aminoglycosides	Gentamicin	0,02	0,03	0,08	0,11
	Neomycin	0	0	0	0,02
	<b>Total</b>	<b>0,02</b>	<b>0,03</b>	<b>0,08</b>	<b>0,13</b>
Combinations	Lincomycin-spectinomycin	0,02	0,01	0,52	0,58
	Amoxicillin-colistin	0,06	0,01	0,16	0,15
	Neomycin-benzylpenicillin	0,01	0,02	0,07	0,07
	Dihydrostreptomycin-nezylpen-nafcilline	0	0,21	0	0,11
	Dihydrostreptomycin-benzylpenicillin	0,33	0,20	0,99	0,62
	<b>Total</b>	<b>0,42</b>	<b>0,24</b>	<b>1,74</b>	<b>1,42</b>
Others	Tiamulin	0	0	0,02	0,00
	Colistin	0,05	0,08	1,48	2,33
	Florfenicol	0,02	0,01	0,02	0,01
	<b>Total</b>	<b>0,07</b>	<b>0,09</b>	<b>1,52</b>	<b>2,34</b>
<b>Total</b>		<b>12,87</b>	<b>14,39</b>	<b>24,48</b>	<b>26,01</b>

Figuur 2.5: Antibioticaverbruik op varkenshouderijen (dd/ay) {MARAN, 2007}

Therapeutic group	Active substance	dd/ay 2004	dd/ay 2005
Penicillines	Ampicillin	0,41	0,09
	Amoxicillin	2,42	3,14
	<b>Total</b>	<b>2,83</b>	<b>3,23</b>
Macrolides and lincosamides	Tylosin	0,77	1,08
Quinolones	Enrofloxacin	0,33	0,21
	Flumequine	3,92	5,26
	<b>Total</b>	<b>4,25</b>	<b>5,47</b>
Sulphonamides and trimethoprim	Trimethoprim-sulfachloorpyridazine	1,56	1,72
	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1,89	1,46
	Sulfadimidine	0,07	0,03
	<b>Total</b>	<b>3,55</b>	<b>3,21</b>
Tetracyclines	Doxycycline	5,38	2,02
	Oxytetracycline	1,82	2,07
	<b>Total</b>	<b>7,20</b>	<b>4,09</b>
Aminoglycosides	Neomycin	0,46	2,55
Combinations	Lincomycin-spectinomycin	0,04	0,17
<b>Total</b>		<b>19,10</b>	<b>19,81</b>

Figuur 2.6: Antibioticaverbruik op pluimveebedrijven {MARAN, 2007}

Therapeutic group	Active substance (administration)	dd/ay 2004	dd/ay 2005
Cephalosporins	Cefquinome	0,05	0,04
	Ceftiofur	0,19	0,31
	Cefapirine	0,03	0,04
		<b>0,27</b>	<b>0,39</b>
Penicillines	Benzylpenicillin	0,42	0,27
	Ampicillin	0,13	0,17
		<b>0,55</b>	<b>0,44</b>
Macrolides and lincosamides	Erythromycin	0,03	0,00
	Tylosin	0,01	0,10
	Tilmycosine	0,00	0,01
		<b>0,04</b>	<b>0,11</b>
Fluoroquinolones	Danofloxacin	0,01	0,00
	Enrofloxacin	0,03	0,03
		<b>0,04</b>	<b>0,03</b>
Sulphonamides and trimethoprim	Trimethoprim-sulfadiazine	0,03	0,05
	Trimethoprim-sulfadoxine	0,11	0,06
	Trimethoprim -chlorpyridiazine	-	0,01
		<b>0,14</b>	<b>0,12</b>
Tetracyclines	Doxycycline	0,06	0,05
	Chlortetracycline	0,00	0,07
	Oxytetracycline	0,90	0,78
	Tetracycline	0,00	0,01
		<b>0,96</b>	<b>0,91</b>
Others	Florfenicol	0,01	0,01
	Lincomycin	0,05	0,01
	Neomycine	0,01	0,01
	Colistin	0,05	0,09
		<b>0,12</b>	<b>0,12</b>
Combinations	Amoxicillin-colistin	0,01	0,00
	Dihydrostreptomycin-benzylpenicillin	0,08	0,10
	Neomycin-benzylpenicillin	0,25	0,19
		<b>0,34</b>	<b>0,29</b>
	<b>Total</b>	<b>2,46</b>	<b>2,39</b>

Figuur 2.7: Antibioticaverbruik voor wat betreft melkkoeien en hun kalven {MARAN, 2007}

## **Bijlage 3: Gedrag**

### 3.1 Werking kationuitwisseling en kationadsorptie

#### Kationenuitwisseling

De kationenuitwisseling is een uitwisseling van kationen tussen een vaste fase (bijvoorbeeld een negatief kleideeltje) en een oplossing (bijvoorbeeld grondwater). De kationuitwisseling heeft een zuurbufferende werking als in de bodem of het grondwater opgeloste protonen (bijvoorbeeld  $H^+$ ) worden uitgewisseld tegen geadsorbeerde kationen (zoals calcium en magnesium). Wanneer een waterstofverbinding een proton (in dit geval  $H^+$ ) afstaat, wordt er gesproken over een zuur {Paulissen M.P.C.P. et al., 2007}.

#### Kationadsorptie:

De negatieve deeltjes in de bodem (bijvoorbeeld klei) kunnen kationen (positief geladen) binden (zie figuur 3.1).



Figuur 3.1 Adsorptie van kationen aan bijvoorbeeld negatieve kleideeltjes

#### Kationenuitwisseling in zandgronden:

Zandgronden zijn in het verleden stevig bemest, waardoor er onder andere veel ammonium op dit land terecht is gekomen {Berendsen, H.J.A., 2000}. Op plekken waar veel ammonium ( $NH_4^+$ ) wordt aangevoerd vindt uitwisseling plaats van gebonden protonen ( $H^+$ ) tegen ammonium. Wanneer de zure zandgronden in aanraking komen met calciumrijk grondwater, wordt de verzuring tegengegaan. De kationen calcium en magnesium kunnen namelijk als bufferstof de verzuring van de bodem tegengaan. De zandgronden komen echter niet vaak in aanraking met calciumrijk grondwater, waardoor de gronden zuur blijven {Paulissen M.P.C.P. et al., 2007}.

### 3.2 Kd-waarden van diverse gronden

In tabel 3.1 zijn voor 30 gronden onderzoeksgegevens weergegeven. Hierbij gaat het om de mogelijke invloeden van verschillende parameters op de Kd en Koc waarden van oxytetracycline in diverse bodems. In deze tabel zijn minstens drie opmerkelijke resultaten te vinden, die rood zijn aangegeven:

- White store is opmerkelijk omdat in dit onderzoek de hoogste Koc waarde is gevonden.
- Burton is opmerkelijk omdat in dit onderzoek de hoogste Kd-waarde is gevonden.
- Leon is opmerkelijk omdat in dit onderzoek de laagste Kd en Koc waarde is gevonden.

De Koc waarde in de tabel is berekend met  $Koc = \frac{Kd}{Foc}$

Het is erg lastig om vanuit de gegevens uit de tabel te bepalen welke factoren de grootste invloed uitoefenen op de adsorptie omdat de factoren ook op elkaar invloed uitoefenen.



Onderzoek Antibiotica in de Bodem

Bodems	Gemeten diepte	Locatie	%klei	%silt	%zand	Totaal C (%)	Foc (%)	pH	Na (mmol/kg)	Al (mmol/kg)	Ca (mmol/kg)	K (mmol/kg)	Mg (mmol/kg)	Kd (ml/g)	Koc (ml/g)
Hagerstown	oppervlakte	Centrum, PA	12.4	70.7	16.9	2.96	3.08	5.6	0.21	0.09	42.89	5.54	6.14	1454	47207
Kleinpeter	oppervlakte	Iberville, LA	8.7	65.7	25.6	1.29	1.87	5.0	0.36	0.09	20.92	1.45	4.40	1504	80427
Wilkes	oppervlakte	Durham, NC	16.5	49.7	33.8	1.63	1.95	4.5	0.31	1.50	9.83	1.28	7.53	2305	118205
White store	sub-oppervlakte	Durham, NC	15.9	31.9	52.3	0.14	0.04	4.5	0.22	4.62	5.93	0.35	1.65	3426	8565000
Enon	sub-oppervlakte	Durham, NC	17.2	43.4	39.4	0.22	0.16	4.7	0.59	6.10	0.65	0.22	1.96	3616	2260000
Iredell	sub-oppervlakte	Durham, NC	54.2	24.2	21.6	0.46	0.46	5.2	2.80	1.40	44.45	2.85	56.90	4897	1064565
Chewacla	sub-oppervlakte	Durham, NC	8.9	28.5	62.7	0.31	0.18	5.4	0.48	0.22	19.30	0.40	10.25	781	433888
Comus	oppervlakte	Henderson, NC	16.6	31.4	52.0	2.01	2.48	5.2	0.35	1.27	8.81	4.12	3.82	2507	101088
Rosman	oppervlakte	Henderson, NC	19.0	34.6	46.4	2.33	2.75	5.6	0.25	0.12	20.64	4.13	8.78	2886	104945
Codorus	sub-oppervlakte	Henderson, NC	11.0	18.8	70.2	0.25	0.20	5.1	0.21	0.91	4.00	0.38	1.39	3174	1587000
Ashe	sub-oppervlakte	Henderson, NC	24.7	24.6	50.7	0.83	0.79	4.6	0.16	2.40	3.44	1.01	2.27	3646	461518
Burton	oppervlakte	Yancey, NC	15.6	36.8	47.6	11.91	8.93	3.2	0.29	21.50	1.85	1.46	0.84	12047	134904
Leon	oppervlakte	Berkeley, SC	1.8	4.2	94.0	1.40	1.78	4.1	0.23	4.05	0.97	0.08	0.34	486	27303
Berryland	sub-oppervlakte	Sussex, DE	1.4	3.8	94.9	1.26	1.68	3.8	0.20	1.87	0.27	0.15	0.14	618	36785
Tunbridge	oppervlakte	Windsor, VT	1.2	41.2	57.6	0.75	0.78	3.6	0.20	7.38	0.71	0.66	1.48	771	98846
Peru	sub-oppervlakte	Windsor, VT	10.6	38.1	51.3	2.49	2.58	3.6	0.18	11.49	1.06	0.52	0.25	1586	61472
Colton	oppervlakte	Windsor, VT	3.5	24.6	71.9	2.91	4.13	5.5	0.28	0.04	34.81	0.83	3.91	1837	44479
Adams	sub-oppervlakte	Windsor, VT	3.9	22.2	73.9	2.69	2.46	4.5	0.18	2.59	0.26	0.19	0.03	2519	102398
Appling	sub-oppervlakte	Durham, NC	14.8	21.8	63.4	0.09	0.05	4.8	0.14	0.63	2.34	0.73	0.93	1435	2870000
Orangeburg	sub-oppervlakte	Sampson, NC	23.9	17.8	58.4	0.30	0.23	6.0	0.22	0.00	10.55	4.27	6.64	1613	701304
Goldsboro	oppervlakte	Sampson, NC	20.1	6.8	73.1	0.26	0.30	4.4	0.17	2.04	2.22	0.57	2.51	2818	939333
Rains	oppervlakte	Sampson, NC	9.2	35.8	55.0	3.54	4.56	5.6	0.18	0.13	25.55	2.48	12.22	2876	63070
Aycock	sub-oppervlakte	Pitt, NC	14.8	19.3	65.9	0.82	0.35	5.3	0.16	1.85	6.69	2.87	1.51	3129	894000
Georgeville	oppervlakte	Durham, NC	26.9	53.5	19.5	0.70	0.84	4.2	0.23	3.39	0.97	1.16	3.88	3135	373214
Heiden	oppervlakte	Bell, TX	49.7	35.9	14.4	6.38	3.94	7.2	0.21	0.00	213.36	3.73	4.25	1751	44441
Moreland	sub-oppervlakte	Red River, LA	42.4	48.5	9.0	1.26	0.47	7.5	0.47	0.00	82.76	3.45	23.30	2034	432765
Heiden	sub-oppervlakte	Bell, TX	51.8	33.6	14.6	4.69	1.31	7.2	0.26	0.00	204.38	2.40	2.49	2038	155572
Pledger	oppervlakte	Wharton, TX	65.1	22.7	12.2	3.90	4.16	6.8	0.88	0.00	236.12	10.70	24.64	2885	69350
Sharkey	sub-oppervlakte	Iberville, LA	53.6	35.7	10.7	0.79	0.74	6.6	2.55	0.00	118.29	3.21	39.06	3436	464324
Sharkey	oppervlakte	Iberville, LA	47.6	41.7	10.7	1.19	1.21	6.6	1.35	0.00	102.46	5.61	35.85	4377	361735

Tabel 3.1 Gedrag van oxytetracycline in diverse bodems {Jones et al., 2005}

## **Bijlage 4: Definitie Ernstig Risico**

Wanneer wordt gekeken naar diergeneesmiddelen, is risico gedefinieerd in artikel 1, lid 19 Diergeneesmiddelenrichtlijn. Hierbij gaat het om *“elk risico voor de gezondheid van dieren of mensen dat verband houdt met de kwaliteit, veiligheid en de werkzaamheid van geneesmiddelen voor diergeneeskundig gebruik en elk risico van ongewenste effecten op het milieu”* (publicatieblad C132/32). In de diergeneesmiddelenrichtlijn staat niet aangegeven wat een mogelijk ernstig risico is voor de gezondheid van mens, dier of milieu. De commissie heeft bevoegdheid bij het verschaffen van een definitie, waarbij de definitie van een ernstig risico als volgt wordt weergegeven: *“een situatie waarin een aanzienlijke kans bestaat dat het gebruik van een diergeneesmiddel ernstige gevolgen heeft voor de gezondheid van mens of dier of voor het milieu zonder dat dit kan worden voorkomen, ongedaan gemaakt of vermeden”*. In deze zin wordt onder ernstig verstaan: *“het risico wat tot de dood kan leiden, levensbedreigend kan zijn, significante invaliditeit of arbeidsongeschiktheid kan veroorzaken, zich in een aangeboren afwijking of misvorming kan uiten, opname in een ziekenhuis kan vereisen of permanente of langdurige verschijnselen bij blootgestelde personen of dieren kan opleveren, dan wel deze effecten feitelijk kan teweegbrengen wanneer het geneesmiddel in het milieu terechtkomt”*.

Het is lastig om een duidelijke beoordeling te geven van een “mogelijk ernstig risico” omdat een diergeneesmiddel ook positieve effecten heeft. Daarom moet er worden gekeken naar zowel de voordelen als de risico’s van het geneesmiddel.

In het publicatieblad {C 132/34} wordt verder beschreven wat er wordt verstaan onder een mogelijk ernstig risico voor de gezondheid van mensen en dieren. Hierbij gaat het om een mogelijk ernstig risico voor de consument van levensmiddelen van dierlijke oorsprong, de gebruikers van het diergeneesmiddel, de dieren en het milieu. Er is sprake van een mogelijk ernstig milieurisico, wanneer:

- *“Voor één of meer milieucompartimenten een groot risico wordt vastgesteld, rekening houdend met de uiteenlopende milieuomstandigheden in de lidstaten (bijvoorbeeld klimaat of geohydrologische gesteldheid).*
- *Dit risico niet met risicobeheersingstrategieën zodanig kan worden verminderd dat het geneesmiddel zonder onaanvaardbaar risico kan worden toegediend en verwijderd.”*

## **Bijlage 5: Oxytetracycline acute toxiciteitstesten**

Acute toxicity of oxytetracycline to soil organisms

Species	Species properties (age, sex)	Soil type	Test compound	Purity [%]	pH	o.m. [%]	Clay [%]	T [°C]	Exp. time	Criterion	Test endpoint	Result test soil [mg.kgdw-1]	Result stand. soil [mg.kgdw-1]	Notes	Reference	Original Reference
<b>Springtail</b>																
<i>Folsomia fimetaria</i>	23-26 days 10 males/10 females	Sandy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,7	6,2	20 °C ± 2 °C	7d	LC50		> 5000		2, 3	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<i>Folsomia fimetaria</i>	23-26 days 10 males/10 females	Sandy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,7	6,2	20 °C ± 2 °C	7d	EC50 reproduction	reproduction	> 5000		2, 3	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<b>Enchytraeid</b>																
<i>Enchytraeus crypticus</i>	10 Mature, with eggs in the clitellum	Sandy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,7	6,2	20 °C ± 2 °C		LC50		> 5000		4	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<i>Enchytraeus crypticus</i>	10 Mature, with eggs in the clitellum	Sandy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,7	6,2	20 °C ± 2 °C		EC50 reproduction	reproduction	2701		4	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<b>Earthworm</b>																
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5 adults, with clitellum	Sandy/loamy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,8	13	15 °C ± 1 °C	7d	LC50		> 5000		1, 5	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5 adults, with clitellum	Sandy/loamy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,8	13	15 °C ± 1 °C	7d	EC50 reproduction	reproduction	4420		1, 5	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5 adults, with clitellum	Sandy/loamy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,8	13	15 °C ± 1 °C	7d	EC50 growth	growth	> 5000		1, 5	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	5 adults, with clitellum	Sandy/loamy	Oxytetracycline Dihydrate		6	2,8	13	15 °C ± 1 °C	7d	EC50 hatchability	hatchability	> 5000		1, 5	Boxall et al 2004	Baguer et al. 2000
1	Were maintained under laboratory conditions in the same test soil-substrate for one week before use															
2	Using guideline described by Wiles and Krogh (1998)															
3	Extracted in an extractor of the MacFadyen type (Petersen, 1978)															
4	Extracted using the wet funnel method ( O'Conner, 1985)															
5	following the guideline described by Kula and Larink (1998)															

Tabel 5.1 Acute toxiciteit van bodemorganen



