



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

## **Verkenning van de microbiologische risico's van mest voor de gezondheid**

RIVM Rapport 2017-0100  
J.P.G. van Leuken et al.





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

**Verkenning van de microbiologische  
risico's van mest voor de gezondheid**  
Op basis van een systematisch literatuuronderzoek

RIVM Rapport 2017-0100

## Colofon

© RIVM 2017

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

DOI 10.21945/RIVM-2017-0100

J.P.G. van Leuken (projectleider), RIVM  
P. Hoeksma (auteur) Wageningen Livestock Research, WUR  
D.R.E. Nijsten (auteur), RIVM  
J.F. Schijven (auteur), RIVM  
H. Schmitt (auteur), RIVM  
A.M. de Roda Husman (auteur), RIVM

Contact:  
Jeroen van Leuken  
Centrum voor Infectieziektenbestrijding  
jeroen.van.leuken@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het Programmacollege Gezondheid en Milieu en is gefinancierd door het ministerie van VWS in het kader van project V/200112 'Ondersteuning van GGD'en'.

Dit is een uitgave van:  
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**  
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
Nederland  
www.rivm.nl

## Publiekssamenvatting

### **Verkenning van de microbiologische risico's van mest voor de gezondheid**

In dit literatuuronderzoek is verkend welke gezondheidsrisico's er zijn door blootstelling aan ziekteverwekkers die via mest worden verspreid. Er werden weinig studies gevonden over de eventuele gevolgen voor de gezondheid als mensen via water en lucht aan ziekteverwekkers uit mest worden blootgesteld. De infectierisico's door blootstelling via de lucht lijken kleiner te zijn dan via het oppervlaktewater. De onderzochte water- en luchtoverdraagbare ziekteverwekkers zijn vaak aanwezig in mest.

Het aantal ziekteverwekkers neemt af als mest wordt verwerkt, bijvoorbeeld door compostering, vergisting en biologisch zuiveren. Hoe groot de afname is, is sterk afhankelijk van de omstandigheden waaronder het mestverwerkingsproces plaatsvindt, zoals de temperatuur en het vocht- en zuurstofgehalte. Ook is de duur van het mestverwerkingsproces van groot belang. Mestverwerking wordt ingezet om overschotten van mest te verwerken of om nieuwe producten te maken en deze eventueel te exporteren.

In dit rapport is de wetenschappelijke literatuur doorzocht naar aantallen ziekteverwekkende bacteriën in mest van varkens en rundvee. Ook is onderzocht in welke mate deze ziekteverwekkers in het oppervlaktewater en de lucht terechtkomen, en wat de eventuele gezondheidsrisico's kunnen zijn. De focus lag in deze verkenning op de ziekteverwekkende variant van de *E. coli*-bacterie en de bekende resistente bacterie MRSA, omdat deze bacteriën goed in water respectievelijk lucht kunnen overleven.

Deze verkenning is uitgevoerd in opdracht van het Programmacollege Gezondheid en Milieu en is gefinancierd door het Ministerie van VWS. Het project is uitgevoerd door het RIVM en Wageningen UR (Livestock Research). Inzicht in de uitstoot van ziekteverwekkers via mest naar het milieu, de eventuele toe- of afname van ziekteverwekkers in mest en de mate van blootstelling daaraan is belangrijk om eventuele risico's voor de gezondheid in te kunnen schatten.

Kernwoorden: mest, ziekteverwekkers, milieu, water, lucht, mestverwerking, gezondheid



## Synopsis

### **Exploration of the microbiological health risks of manure**

This literature review explored the health risks associated with exposure to pathogens that are spread through manure. Few studies were found on possible health risks of human exposure to pathogens from manure through water and air. The risks of infection resulting from exposure through air appear to be smaller than through surface water. The airborne and waterborne pathogens that were studied are often present in manure.

The number of pathogens decreases when manure is treated, for example through composting, fermentation and biological purification. The extent of the decrease is highly dependent on the conditions of the manure treatment, such as the temperature and the moisture and oxygen content. The duration of the manure treatment process is also very important. Manure treatment is applied to process manure surpluses or to create new products and possibly export them.

In this report, the scientific literature was reviewed for the number of pathogenic bacteria in manure from pigs and cattle. The extent to which these pathogens find their way into the surface water and air, as well as the possible health risks were also examined. The focus in this explorative study was on the pathogenic variant of the *E. coli* bacterium and the known resistant bacterium MRSA, since these bacteria can survive well in water and air, respectively.

This study was carried out on behalf of the Health and Environmental Programme-based Executive and was funded by the Ministry of Health, Welfare and Sport. The project was carried out by RIVM and Wageningen UR (Livestock Research). Insight into the emissions of pathogens from manure to the environment, the possible growth or inactivation of pathogens in manure and the extent of exposure is important in assessing potential health risks.

Keywords: manure, pathogens, environment, water, air, manure treatment, health





## Inhoudsopgave

<b>1</b>	<b>Samenvatting — 9</b>
1.1	Doel van dit onderzoek — 9
1.2	Resultaten — 9
1.2.1	Pathogenen in mest — 9
1.2.2	Verspreiding via het milieu — 9
1.2.3	Mogelijke risico's voor de gezondheid — 10
1.2.4	Effecten van mestverwerking — 10
1.3	Belangrijkste kennisbiaten — 10
<b>2</b>	<b>Inleiding — 13</b>
2.1	Mestproductie in Nederland — 13
2.2	Ziekteverwekkers — 14
2.3	Verspreiding via het milieu — 14
2.3.1	Water — 14
2.3.2	Lucht — 15
2.4	Doel van dit rapport — 15
2.5	Focus — 15
2.6	Leeswijzer — 15
<b>3</b>	<b>Achtergrondinformatie — 17</b>
3.1	Pathogene <i>Escherichia coli</i> — 17
3.2	Meticilline-resistente <i>Staphylococcus aureus</i> — 17
<b>4</b>	<b>Opzet van het onderzoek — 19</b>
4.1	Zoekstrategie en selectiecriteria — 19
4.2	Systematisch literatuuronderzoek — 19
4.3	'Mestbewerking' versus 'mestverwerking' — 20
<b>5</b>	<b>Resultaten — 21</b>
5.1	Systematisch literatuuronderzoek — 21
5.1.1	Aantal publicaties — 21
5.1.2	Landen — 21
5.1.3	Uitgesloten publicaties — 21
5.2	Pathogenen in mest — 22
5.2.1	Gedetecteerde ziekteverwekkers — 22
5.2.2	Prevalenties en concentraties — 22
5.3	Verspreiding van mest naar het milieu — 23
5.4	Blootstellings- en infectierisico's — 25
5.4.1	Wateroverdraagbare ziekteverwekkers — 25
5.4.2	Luchtoverdraagbare ziekteverwekkers — 25
5.5	Effecten van opslag en mestverwerking op de overlevingskansen van ziekteverwekkers in mest — 26
5.5.1	Opslag — 26
5.5.2	Anaerobe vergisting — 28
5.5.3	Biologische zuivering — 29
5.5.4	Mechanische scheiding — 29
5.5.5	Compostering — 31
5.5.6	Verhitting (pasteurisatie) — 31
5.5.7	Membraanfiltratie — 33

**6 Conclusies en duiding — 35**

6.1 Conclusies — 35

6.1.1 Pathogenen in mest — 35

6.1.2 Verspreiding via het milieu — 35

6.1.3 Risico's voor de gezondheid — 35

6.1.4 Effecten van mestverwerking — 36

6.2 Kwantitatieve microbiologische risicoanalyse (QMRA) — 37

6.3 Inactivatie van pathogenen in het milieu — 37

6.4 Andere pathogenen — 38

6.5 Bijdrage aan de ziektelast in Nederland — 38

6.6 Emissie uit mestverwerkers — 38

**7 Referenties — 41**

**Bijlage 1 Systematische zoekterm (technische versie) — 49**

**Bijlage 2 Prevalentie- en concentratiewaarden — 52**

# 1 Samenvatting

## 1.1 Doel van dit onderzoek

In dit rapport is de aanwezigheid van ziekteverwekkende micro-organismen (pathogenen) in mest onderzocht. Verkend werd welke mogelijke risico's er zijn voor de gezondheid door blootstelling aan pathogenen afkomstig uit mest. Ook werden de effecten van mestverwerking op de overleving van (pathogene) micro-organismen onderzocht.

Met dit systematisch literatuuronderzoek is een stap gezet om de omvang van mestbronnen in beeld te brengen en te bepalen in hoeverre ziekteverwekkers uit mest zich door het milieu kunnen verspreiden.

Het onderzoek spitste zich toe op mest van rundvee en varkens. Het merendeel van de in Nederland geproduceerde mest is namelijk van deze dieren afkomstig. Het onderzoek richtte zich op de pathogene *Escherichia coli* en meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA), omdat deze bacteriën goed in water respectievelijk lucht kunnen overleven. Het deelonderzoek naar mestverwerking richtte zich op een breder spectrum aan micro-organismen. In totaal zijn 126 wetenschappelijke publicaties onderzocht.

## 1.2 Resultaten

De belangrijkste conclusie is dat er tot dusver weinig onderzoek gedaan is naar eventuele gezondheidsrisico's door blootstelling aan pathogenen in het milieu (water en lucht) die afkomstig zijn van mest. Daarmee is ook nog niet vast te stellen in hoeverre mest bijdraagt aan de ziektelast in Nederland. Wel is gebleken dat de onderzochte pathogenen vaak in mest kunnen voorkomen. Ook kan verspreiding naar het milieu plaatsvinden. Verder blijkt het aantal ziekteverwekkers af te nemen als mest wordt bewerkt.

### 1.2.1 *Pathogenen in mest*

In 17% van de monsters rundveemest en 43% van de monsters varkensmest werd de pathogene *E. coli*-bacterie aangetoond (in respectievelijk 48 en 13 publicaties). Slechts in een beperkt aantal publicaties werd ook de *concentratie* van deze bacteriën bepaald, die gemiddeld 1.000 kolonievormende eenheden (kve) per gram mest bedroeg. De MRSA-bacterie werd slechts in twee publicaties onderzocht en alleen aangetoond in varkensmest.

### 1.2.2 *Verspreiding via het milieu*

Na toepassing van mest op het land kunnen pathogenen in het milieu, zoals oppervlaktewater, het grondwater of de buitenlucht, terecht komen. In 12 publicaties werd het milieu onderzocht op de aanwezigheid van pathogene *E. coli*-bacteriën afkomstig uit mest. De meeste studies richtten zich op oppervlaktewater dat onder invloed stond van mest. De prevalentie (het percentage positieve monsters) varieerde in deze 12 studies tussen de 2,3% tot 88%. Er werden geen studies over MRSA-bacteriën in het milieu gevonden die afkomstig zijn uit mest.

### 1.2.3 *Mogelijke risico's voor de gezondheid*

Er werd slechts één publicatie gevonden waarin de gezondheidsrisico's werden berekend door inname van besmet oppervlaktewater. Er werden ziektekansen voorspeld in de orde van minder dan 1% (voor *E. coli* O157 uit varkensmest) tot enkele tientallen procenten (voor *E. coli* O157 uit rundveemest).

Verder werden in een reeks van drie publicaties blootstellings- en infectierisico's geschat door verspreiding van pathogene *E. coli* via de buitenlucht. Hier werd uitgegaan van een blootstellingsduur van acht uur op afstanden van 100 en 1.000 meter van een bron. Berekend werd dat één op iedere 25.000 respectievelijk 50.000 blootgestelde mensen geïnfecteerd zou worden.

### 1.2.4 *Effecten van mestverwerking*

Het deelonderzoek naar de effecten van mestverwerkingstechnieken richtte zich op een groter aantal micro-organismen, waaronder ook pathogenen. De mestverwerkingstechnieken die de inactivatie (afname) van micro-organismen bevorderen zijn: anaerobe vergisting, aerobe compostering, verhitting en omgekeerde osmose. Echter, in welke mate inactivatie optreedt, is sterk afhankelijk van temperatuur en de duur van het mestverwerkingsproces. Over het algemeen geldt dat verwijdering van micro-organismen het meest gunstig is bij temperaturen van 60°C of hoger. Compostering bij deze temperatuur leidde in meerdere publicaties tot een vrijwel volledige inactivatie van (pathogene) *E. coli*, *Salmonella* spp. en *Listeria* spp. Daarnaast zijn een laag vochtgehalte en een laag zuurstofgehalte (bij aerobe bacteriën) bepalend. Ook opslag van mest leidde tot inactivatie van micro-organismen. Er werd geen effect gevonden van het mechanisch scheiden of biologisch zuiveren van mest. Virussen en parasieten werden nauwelijks onderzocht.

## 1.3 **Belangrijkste kennishiaten**

Hoewel het milieuonderzoek zich alleen richtte op pathogene *E. coli*- en MRSA-bacteriën, zijn ook andere pathogenen in mest van belang als het gaat om de verspreiding naar het milieu. De belangrijkste hiervan zijn de bacteriën *Salmonella enterica* en *Campylobacter* spp., de parasieten *Cryptosporidium parvum* en *Giardia duodenalis* en het hepatitis E-virus. De emissie, verspreiding, blootstelling en risico's op infectie kunnen per pathogeen geschat worden middels een kwantitatieve microbiologische risicobeoordeling (QMRA). Ook kan epidemiologisch onderzoek uitgevoerd worden om risicofactoren te achterhalen, in het geval er ziektegevallen zijn opgetreden.

In dit onderzoek bleek dat het aantal concentratiebepalingen in het milieu, als het gaat om pathogenen afkomstig uit mest, beperkt zijn. Er zijn daarom aanvullende metingen vereist om een gedegen QMRA-berekening te kunnen uitvoeren. Ook hebben de meeste in dit onderzoek beoordeelde studies betrekking op andere landen. In Nederland is de dichtheid van veehouderijen echter zeer groot en wonen relatief veel mensen dichtbij veehouderijen. De verwachting is dat daarmee de druk van pathogenen uit mest op het milieu dan ook groter is, wat de risico's voor de gezondheid mogelijk vergroot. Daarnaast is niet duidelijk in hoeverre de gevonden waarden afwijken van die tijdens

een uitbraaksituatie. Tijdens de Nederlandse Q-koortsepidemie bijvoorbeeld was mest een mogelijk reservoir voor de Q-koortsbacterie. Ten slotte is nog onduidelijk in hoeverre eventuele emissie van pathogenen uit mestverwerkers plaatsvindt (bijvoorbeeld uit luchtwassers) en hoe die zich verhoudt tot emissie van pathogenen vanaf bemeste akkers.



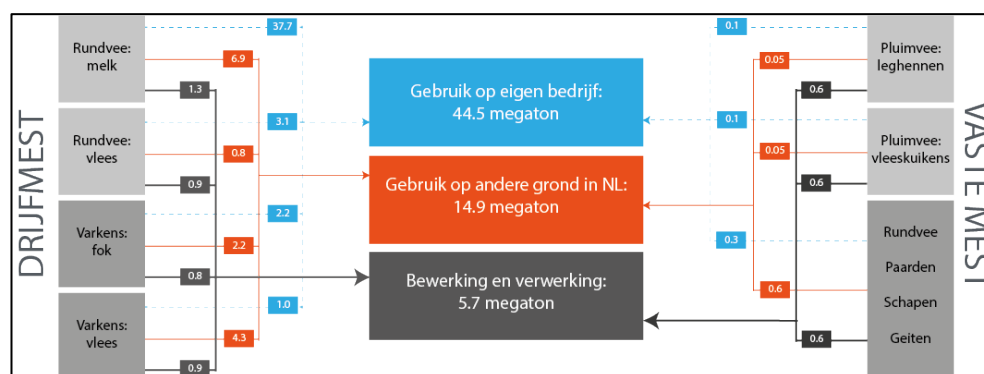
## 2 Inleiding

Dierlijke mest kan micro-organismen bevatten die ziekteverwekkend zijn voor de mens (pathogenen). Ook draagt mest mogelijk bij aan de problematiek rondom antibioticumresistentie. GGD'en, waterschappen, lokale overheden en burgers hebben behoefte aan meer (wetenschappelijke) informatie over de mogelijke risico's van mest voor de gezondheid en het milieu, bijvoorbeeld als gevolg van het uitrijden van mest of van grootschalige mestverwerking. Ook is behoefte aan een methodiek om de mogelijke effecten van mest op de gezondheid te kunnen beoordelen.

Dit rapport is een eerste aanzet daartoe. Met een systematisch literatuuronderzoek zijn de aanwezigheid van pathogenen in mest en de mogelijke gevolgen van blootstelling daaraan voor de gezondheid en het milieu verkend. Aanvullend is onderzocht welke effecten mestverwerkingstechnieken hebben op de aantallen micro-organismen in mest.

### 2.1 Mestproductie in Nederland

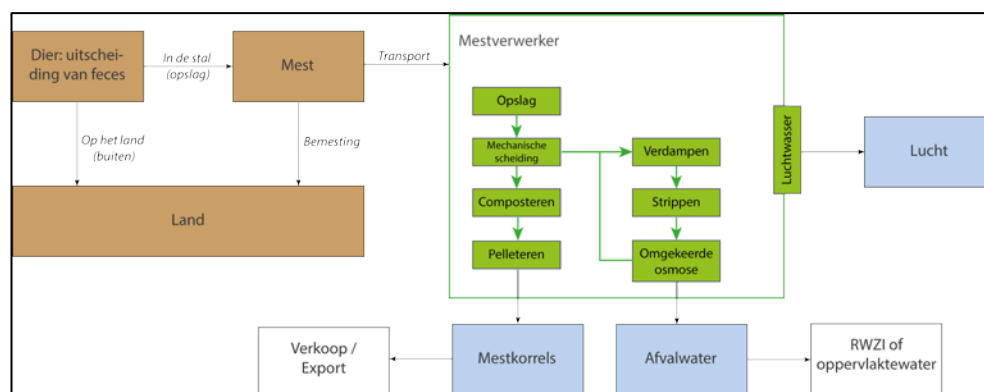
De Nederlandse veehouderijsector produceerde in 2015 ruim 76 miljoen ton mest (CBS, 2017). Deze hoeveelheid blijft sinds 2002 jaarlijks licht stijgen. Van alle mest is ongeveer 80% afkomstig van runderen en 15% afkomstig van varkens. De overige 5% wordt geproduceerd door pluimvee en andere dieren, zoals geiten, schapen en paarden. In 2015 werd bijna driekwart (73%) van de mest op eigen land toegepast, een vijfde deel (20%) werd toegepast op andere landbouwbedrijven en de rest (7%) werd afgezet naar bedrijven die mest bewerken of verwerken (Figuur 1).



Figuur 1. Overzicht van mestproductie en toepassing in Nederland in 2015. Cijfers zijn afkomstig van CBS, 2017.

Landbouwhuisdieren scheiden feces ofwel direct op het land uit, ofwel in de stal, waar mest opgeslagen wordt (Figuur 2). Op een later moment wordt de mest op het land toegepast of afgevoerd naar een mestverwerker. Daar worden verschillende technieken toegepast (zoals mechanische scheiding, compostering of vergisting) om mestkorrels te maken of de mest te kunnen exporteren. Lozing van eventuele afvalstoffen vanuit mestverwerkers vindt plaats op het water (riolering

of oppervlaktewater) of naar de buitenlucht (Van Leuken en Hoeksma, 2016).



Figuur 2. Transmissieschema van mest. Bron: Van Leuken and Hoeksma (2016)

## 2.2 Ziekteverwekkers

Mest is echter een risicofactor voor het optreden van ziekte, bijvoorbeeld door een infectie met *E. coli* O157 (Belongia et al., 2003; Van Duynhoven et al., 2002). Mest kan grote aantallen bacteriën bevatten: gemiddeld miljoenen tot honderden miljoenen bacteriën per gram mest (Dufour et al., 2012; Jones, 1999). De meeste hiervan zijn niet ziekteverwekkend voor de mens, zoals de bacteriën *Enterococcus* spp. en veel varianten van *Escherichia coli*. Dit zijn zogenaamde 'fecale indicatoren' die kunnen wijzen op de aanwezigheid van mest of feces (Blaustein et al., 2015).

Een deel van de micro-organismen in mest kan echter ziekteverwekkend zijn. De belangrijkste ziekteverwekkende micro-organismen in mest zijn *Escherichia coli* serotype O157:H7, *Salmonella enterica*, *Campylobacter* spp., *Cryptosporidium parvum* en *Giardia duodenalis* (Dufour et al., 2012).

De Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA) controleert de bestemming en verwerking van dierlijke bijproducten op basis van Europese wetgeving. Onderdeel daarvan is de controle op de microbiologische kwaliteit van mest (*E. coli*, *Enterococcus* spp. en *Salmonella* spp.), maar alleen in het geval deze geëxporteerd wordt naar het buitenland (RVO, 2017).

## 2.3 Verspreiding via het milieu

Vanuit mest kunnen ziekteverwekkers het milieu (water, bodem of lucht) bereiken. Het onderdeel 'bodem' wordt hier niet apart behandeld vanwege de sterke wisselwerking met water (sediment, grondwater) dan wel lucht (stof).

### 2.3.1 Water

Pathogenen afkomstig uit mest kunnen zich verspreiden naar het water, bijvoorbeeld door afspoeling naar het oppervlaktewater door neerslag of naar het grondwater door infiltratie (Blaustein et al., 2015; Schijven et al., 2015b; Sterk et al., 2016). Ook kunnen gewassen besmet raken door irrigatie met besmet oppervlakte- of grondwater (Blaustein et al.,



2015; Njage en Buys, 2014). De mate waarin ziekteverwekkers in het water terecht komen is afhankelijk van veel factoren, zoals de bacteriesoort, mestsoort, de leeftijd van de mest, de wijze waarop mest is toegepast of behandeld en meteorologische condities (Blaustein et al., 2015). Temperatuur en vochtgehalte zijn vaak zeer bepalend voor overlevingskansen van pathogenen (Bertrand et al., 2012; Franz et al., 2014, 2008).

### 2.3.2 Lucht

Ziekteverwekkers kunnen zich ook als bio-aerosol (micro-organismen die worden verspreid door de lucht, zoals bacteriën, virussen en schimmels) verplaatsen door de buitenlucht (Van Leuken et al., 2015b). Dit vond bijvoorbeeld plaats tijdens de Q-koortsepidemie van 2007-2010 (Van Leuken et al., 2015a). In het onderzoeksproject Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (VGO) werd inzicht verkregen in de emissie en verspreiding van zoönotische ziekteverwekkers vanuit stallen en de effecten door blootstelling daaraan via de lucht voor de gezondheid (Hagenaars et al., 2017; Maassen et al., 2016). Verder wees eerder literatuuronderzoek naar mogelijke gezondheidsrisico's van wonen nabij composteerbedrijven uit dat weinig bekend was over bio-aerosolen die tijdens het composteerproces in de omgeving vrij kunnen komen (Hagens et al., 2011). Hierdoor kon geen uitspraak gedaan worden over mogelijke gezondheidseffecten. Ten slotte bleken de risico's op verspreiding van pathogenen uit het digestaat van co-vergisters beperkt in vergelijking met het digestaat van niet-vergisters (Heezen et al., 2014; Oenema en Velthof, 2015).

## 2.4 Doel van dit rapport

Het doel van dit rapport is het beschrijven van:

- a. De mogelijke aantallen ziekteverwekkers per gram mest;
- b. De wijze waarop ziekteverwekkers afkomstig uit mest tot blootstelling bij de mens kunnen leiden;
- c. De mogelijke blootstellings- en infectierisico's van ziekteverwekkers afkomstig uit mest die via het milieu zijn verspreid;
- d. De effecten van huidig toegepaste mestbewerkingstechnieken op de overleving van micro-organismen.

## 2.5 Focus

Dit literatuuronderzoek is gericht op rundvee- en varkensmest. Deze mestsoorten omvatten ongeveer 95% van de jaarlijks geproduceerde mest in Nederland. Verder is breed gezocht naar zoönotische pathogenen en heeft de verkennende analyse zich vervolgens toegespitst op pathogene *Escherichia coli* en de meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) die goed overleven in respectievelijk water en lucht.

## 2.6 Leeswijzer

Hoofdstuk 2 geeft nadere achtergrondinformatie over de geselecteerde pathogenen. Hoofdstuk 3 beschrijft de opzet van het onderzoek. In hoofdstuk 4 wordt antwoord gegeven op de onderzoeksvragen. Het rapport sluit af met een duiding en de belangrijkste conclusies (hoofdstuk 5).



## 3 Achtergrondinformatie

### 3.1 Pathogene *Escherichia coli*

*Escherichia coli* (*E. coli*) behoort tot de familie *Enterobacteriaceae* en is van nature in grote mate aanwezig in de darmen van dieren en mensen. De bacterie wordt vaak als indicator gebruikt om de aanwezigheid van feces vast te stellen. Van de landbouwhuisdieren is de bacterie het meest aanwezig in rundvee (Bach et al., 2002; Dufour et al., 2012).

Er zijn echter ook varianten van *E. coli* die een infectie en ziekte kunnen veroorzaken bij mensen, zoals de shigatoxine-producerende *E. coli* (STEC). Deze groep omvat ongeveer 200 serotypen. Hiervan zijn de serotypen O26, O45, O91, O103, O111, O121, O145 en O157 de belangrijkste ziekteverwekkende varianten (Fairbrother en Nadeau, 2006; Rhoades et al., 2009). Het serotype dat de meeste infecties bij mensen veroorzaakt is *E. coli* O157:H7 (Hussein en Bollinger, 2005). Deze wordt gerekend tot de zogenaamde enterohemorragische *E. coli* (EHEC).

Eenmaal geïnfecteerd, scheiden mensen en dieren de *E. coli*-bacterie weer uit via feces. Vervolgens kan de bacterie bij slechte hygiëne verder verspreid worden. Een infectie kan optreden door inname van besmet voedsel of water of door direct contact met dieren of mensen (Dufour et al., 2012). Inname van besmet water kan optreden wanneer drinkwater verontreinigd is of wanneer gezwommen wordt in verontreinigd water. Infecties door O157:H7 komen vaker voor in landelijke gebieden en treden vaker op in de zomermaanden (Bach et al., 2002).

De meeste STEC-infecties worden gerapporteerd in de Verenigde Staten en Canada, maar ook in Europa is STEC een belangrijke oorzaak van infecties bij mensen (Fairbrother en Nadeau, 2006). In Nederland werden in 2015 in totaal 848 STEC-gevallen geregistreerd, waarvan in 77 gevallen het een infectie door O157 betrof (Friesema et al., 2016).

Afhankelijk van het serotype leidt een besmetting tot meer of minder ernstige verschijnselen. Milde klachten omvatten misselijkheid, braken en diarree. Ernstige besmettingen kunnen een verminderde nierfunctie of bloedaafbraak tot gevolg hebben. Dit heet het Haemolytisch Uremisch Syndroom (HUS) (Hussein en Bollinger, 2005). Vooral kinderen, ouderen, zwangere vrouwen en mensen met een verminderde weerstand zijn gevoelig voor een *E. coli*-infectie. Een infectie door *E. coli* O157:H7 kan al optreden bij blootstelling aan enkele tientallen bacteriën (Dufour et al., 2012).

### 3.2 Meticilline-resistente *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* is een bacterie die bij dieren en mensen voorkomt, vooral in de neus en op de huid (Acton et al., 2009). De bacterie veroorzaakt normaal gesproken geen ziekte, maar bij beschadiging van huid of slijmvliezen kunnen infecties ontstaan. Afhankelijk van de weerstand krijgen mensen mildere (zoals oppervlakkige huidinfectie) of ernstigere (zoals bloedstroominfectie)

klachten. Huidinfecties kunnen spontaan genezen of worden behandeld met antibiotica.

Een bekende variant is de MRSA (meticilline-resistente *Staphylococcus aureus*), die voor meerdere antibiotica ongevoelig (resistent) is. Behandeling van MRSA is dan ook lastig (Ammerlaan et al., 2009).

Mensen en dieren die *S. aureus* bij zich dragen kunnen de bacterie verspreiden door verlies van huidcellen, slijmvliescellen en haren. De bacterie is binnenshuis in de lucht en in huisstof te vinden, op kleding en op het oppervlak van bijvoorbeeld meubilair. De bacterie kan goed overleven in een droge omgeving.

## 4 Opzet van het onderzoek

### 4.1 Zoekstrategie en selectiecriteria

Een systematisch literatuuronderzoek werd uitgevoerd op 10 oktober 2016 in de databases van Scopus en Embase.com. Gezocht werd naar publicaties die vanaf 1980 zijn verschenen. Publicaties in talen anders dan Engels en Nederlands werden uitgesloten. Bijlage 1 toont de volledige zoekterm.

De zoektermen bestonden uit synoniemen voor de (1) rundvee en varkens, (2) uitwerpselen en (3) pathogene *E. coli* en MRSA. Verder werd gezocht op synoniemen voor (4) concentratie, (5) transmissie, (6) blootstelling en risico's en (7) de effecten van mestverwerkingstechnieken op micro-organismen.

Het onderzoeksveld 'bodemmicrobiologie' werd uitgesloten, evenals studies gedaan buiten Europa en Noord-Amerika en documenten anders dan 'artikelen', 'reviews' en 'conference proceedings'.

Om een beeld te krijgen van het aantal gemiste publicaties over andere landbouwhuisdieren en pathogenen, is een aanvullende lijst met zoektermen ingevoerd in de databases. Voor landbouwhuisdieren betrof het een aanvullende zoekstrategie voor pluimvee; voor pathogenen betrof het alle opkomende zoönotische pathogenen in Nederland (Van der Giessen et al., 2010), ongeacht of deze via mest verspreid worden.

### 4.2 Systematisch literatuuronderzoek

Het literatuuronderzoek is uitgevoerd volgens de *Guidelines for systematic reviews in environmental management*<sup>1</sup>. Er is voor de volgende aanpak gekozen:

1. Eén van de onderzoeksliden scande alle titels volgens de vastgelegde selectiecriteria; publicaties die buiten het onderzoeksveld lagen, werden uitgesloten.
2. De samenvattingen van de geselecteerde publicaties zijn door deze onderzoeker doorgenomen. Publicaties waarover twijfel bestond, werden geclassificeerd als 'relevant'.
3. De geselecteerde publicaties zijn door twee onderzoekers geanalyseerd. Kenmerkende informatie met betrekking tot de onderzoeksvragen werd in een database opgeslagen.
4. Met betrekking tot de deelvraag gericht op concentraties in mest, zijn alleen studies geselecteerd waarvan monsters zijn genomen in uitwerpselen of mest die niet gerelateerd werden aan een individueel dier (en waarvan dus onbekend was op welk moment de feces uitgescheiden waren). Studies waarin monsters genomen waren in het rectum of van feces direct na uitscheiding werden dus uitgesloten.

<sup>1</sup> Collaboration for Environmental Evidence. 2013. Guidelines for Systematic Review and Evidence Synthesis in Environmental Management. Version 4.2. Environmental Evidence: [www.environmentalevidence.org/Documents/Guidelines/Guidelines4.2.pdf](http://www.environmentalevidence.org/Documents/Guidelines/Guidelines4.2.pdf)

Daarnaast bleek tijdens het onderzoek dat veel publicaties die het onderwerp 'mestverwerking' behandelen, zich vaak richtten op zowel pathogene als niet-pathogene micro-organismen. Daarom zijn specifiek voor het deelonderzoek naar mestverwerking aanvullend (maar niet systematisch) extra publicaties verzameld en geanalyseerd.

### **4.3 'Mestbewerking' versus 'mestverwerking'**

In dit rapport is de term 'mestverwerking' van toepassing op alle technieken die gericht zijn op het behandelen van mest. In werkelijkheid bestaat er echter onderscheid tussen de termen *mestbewerking* en *mestverwerking*. Mestbewerking is het behandelen van dierlijke mest zonder het product wezenlijk te veranderen. Hieronder valt bijvoorbeeld het mengen en roeren van mest, maar ook het mechanisch scheiden van drijfmest in een dunne en een dikke fractie. Verder vallen hier vergisten, composteren, biologisch zuiveren, drogen en membraanfiltratie onder. Mestverwerking is het toepassen van (combinaties van) technieken, die de aard en de hoedanigheid van de mest dusdanig veranderen dat het eindproduct geëxporteerd kan worden. Verbranden (alleen bij pluimveemest), hygiëniseren en korrelen vallen hieronder.

## 5 Resultaten

Dit hoofdstuk beschrijft de resultaten van het systematisch literatuuronderzoek. In paragraaf 5.1 wordt het aantal onderzochte publicaties beschreven. Vervolgens worden de concentraties van pathogenen in mest (paragraaf 5.2), de concentraties pathogenen in het milieu (paragraaf 5.3) en de blootstellings- en infectierisico's (paragraaf 5.4) beschreven. In paragraaf 5.5 worden de effecten van opslag van mest en het toepassen van mestverwerkingstechnieken op de overleving van ziekteverwekkers uitgewerkt.

### 5.1 Systematisch literatuuronderzoek

#### 5.1.1 *Aantal publicaties*

De geformuleerde zoekterm leverde in totaal 4.113 publicaties op uit twee literatuurdatabases (Bijlage 1). Door het toepassen van de selectiecriteria op bronnen, pathogenen en transmissieroutes (zie hoofdstuk 3) bleven 1.200 publicaties over.<sup>2</sup> Na het scannen van de geselecteerde titels bleven 504 publicaties over, waarvan 296 werden geselecteerd voor analyse.

Onder deze 296 geanalyseerde publicaties werden 126 relevante publicaties gevonden. Hiervan hadden er 70 betrekking op concentraties in mest en milieu en infectierisico's. In totaal 54 publicaties behandelden sec het onderwerp mestverwerking. In twee publicaties werden beide onderwerpen behandeld.

#### 5.1.2 *Landen*

Alleen publicaties waarvan metingen plaatsvonden in Europese of Noord-Amerikaanse landen werden geselecteerd. Van de 72 publicaties over concentraties en infectierisico's waren de meeste gebaseerd op metingen gedaan in de Verenigde Staten (n = 24) en Canada (14x). Verder waren er studies afkomstig uit het Verenigd Koninkrijk (7x), Duitsland (6x), Nederland (5x), Ierland (3x), Frankrijk (2x), Italië (2x), Zweden (2x), Oostenrijk (1x), Tsjechië (1x), Griekenland (1x), Spanje (1x) en Zwitserland (1x).

#### 5.1.3 *Uitgesloten publicaties*

Eén van de belangrijkste redenen voor het uitsluiten van publicaties was het toepassen van bemonstering in het rectum van dieren. Verder werden zeven epidemiologische studies gevonden die weliswaar verbanden aantonen, maar geen kwantitatieve risico's rapporteren. Andere aspecten die buiten beschouwing zijn gelaten, zijn geur, concentraties in het afvalwater van veehouderijen, emissies uit veehouderijen, effecten van diervaccinaties op het uitscheiden van pathogenen, metingen in bodems en metingen in wilde dieren.

<sup>2</sup> In totaal werden pathogenen in pluimveemest onderzocht in 325 publicaties; 2.588 publicaties behandelden andere pathogenen dan pathogene *E. coli* of MRSA. Omdat beide onderdelen buiten de focus van dit onderzoek lagen, zijn deze publicaties niet verder geanalyseerd. Deze publicaties zijn echter wel geïdentificeerd en dus beschikbaar voor eventueel toekomstig onderzoek.

## 5.2 Pathogenen in mest

### 5.2.1 Gedetecteerde ziekteverwekkers

De aanwezigheid van pathogenen in mest werd in 57 studies onderzocht, waarvan pathogene *E. coli* in 56 studies en MRSA in twee studies werd onderzocht. Verreweg de meeste publicaties onderzochten het serotype O157 (n = 45). Ook de andere belangrijke serotypen werden onderzocht: O26 (5x), O45 (2x), O103 (4x), O111 (3x), O121 (2x) en O145 (3x). Serotype O91 (ook een relevante variant) werd niet onderzocht.

Serotype O2 werd in twee publicaties onderzocht. De serotypen O3, O15, O25, O33, O69, O76, O88, O98, O108, O113, O118, O128, O136, O150, O153 en O171 werden alle in één publicatie gerapporteerd. De classificatie 'non-O157 *E. coli*' kwam in twee publicaties voor. De algemene groepen Enterohemorragische (EHEC), Enterotoxische (ETEC) en Enteropathogene (EPEC) *E. coli* werden elk in één publicatie gedetecteerd; shiga-toxine producerende *E. coli* (STEC) kwam in zes publicaties voor. Niet-nader gespecificeerde pathogene *E. coli* kwam zeven keer voor. ESBL-producerende *E. coli*, ESBL/AmpC-producerende *E. coli* en cefotaximine-resistente *E. coli* werden respectievelijk vier, zes en één keer gedetecteerd.

### 5.2.2 Prevalenties en concentraties

Tabel 1 vat de aantallen publicaties, het gemiddeld en maximum aantal onderzochte serotypen, het gemiddeld en maximum aantal samples per studie, de gemiddelde prevalentiewaarden (inclusief het 2.5<sup>e</sup> en 97.5<sup>e</sup> percentiel) en de gemiddelde en maximale concentratiewaarden samen, uitgesplitst naar diertype en ziekteverwekker.

In 48 publicaties werd rundveemest onderzocht. In deze publicaties werden gemiddeld 1.361 monsters genomen. In gemiddeld 17,1% van de onderzochte monsters werd de pathogene *E. coli* aangetoond. In twee van deze studies werd aanvullend de concentratie bepaald (met gemiddelde waarden van  $1,4 \times 10^3$  en  $8,6 \times 10^3$  kolonievormende eenheden (kve) per gram mest).

In 13 publicaties werd varkensmest onderzocht op de aanwezigheid van pathogene *E. coli*. Gemiddeld was 43,4% van de monsters positief. In twee publicaties werden concentratiebepalingen gedaan; hieruit kwamen gemiddelde waarden van  $4,5 \times 10^3$  en  $6,5 \times 10^3$  kve/gram.

MRSA werd slechts in twee publicaties onderzocht; één keer in rundveemest en twee keer in varkensmest. In het rundveemestmonsters werd de bacterie niet aangetoond. Gemiddeld was 37,0% van de varkensmestmonsters positief.



Tabel 1. Aantal positieve monsters (prevalentie) en concentratiewaarden samengevat per diersoort en per ziekteverwekker. (\*) De concentratiewaarden geven de gemiddelde en de maximale waarde per studie aan.

Dier	Bac- terie	Serotypen per studie (n)		Samples per studie (n)		Prevalentie [%]			Concentratie [kve/gram]		
		Gem.	Max.	Gem.	Max.	Gem.	95%	Studies (n)	Gem.*	Max.*	Studies (n)
Rund	<i>E. coli</i>	1,9	17	1.361	17.050	17,1	0,0 – 91,0	48	8,6x10 <sup>3</sup> 1,4x10 <sup>3</sup>	7,5x10 <sup>4</sup> 1,5 x 10 <sup>4</sup>	2
	MRSA	1	-	1	-	0,0	-	1	-	-	0
Varken	<i>E. coli</i>	1,4	4	353	2.526	43,4	0,0 – 100	13	6,5x 0 <sup>3</sup> 4,5x10 <sup>3</sup>	-	2
	MRSA	1,5	2	238	460	37,0	6,4 – 71,0	2	-	-	0

Bijlage 2 geeft een gedetailleerd overzicht weer van de prevalentie- en concentratiewaarden per publicatie.

### 5.3 Verspreiding van mest naar het milieu

In de onderzochte studies is alleen de verspreiding van pathogene *E. coli* naar het milieu onderzocht (Tabel 2). In totaal 12 publicaties rapporteerden gegevens hierover. MRSA werd in geen enkele milieustudie onderzocht.

De meeste monsters zijn genomen in oppervlaktewater. Het aantal positieve monsters uit oppervlaktewater varieerde van 2,3% tot 88,0%, hetgeen sterk afhankelijk is van de afstand tot een mestbron. Verder zijn metingen gedaan in de buitenlucht en in drinkwater.

In één studie zijn concentratiebepalingen gedaan (Von Salviati et al., 2015). Op 100 meter bovenwinds van een varkensbedrijf en 50 meter benedenwinds werd telkens één positief monster gevonden.

Tabel 2. Aantal positieve monsters (prevalentie) en gemiddelde concentratiewaarden in water en lucht op basis van PCR (aanwezigheid van DNA) en kweek (alléén levende bacteriën).

Referentie	Dier	Bacterie	Toelichting	# Mon- sters	PCR positief		Kweek positief		Concen- tratie [CFU/ m3]
					n	%	n	%	
<b>Buitenlucht</b>									
Jahne et al., 2016	Rund	E. coli O157	Metingen bij veld	11	10				
Jahne et al., 2015b	Rund	E. coli O157	Metingen bij veld	11	0				
Jahne et al., 2015a	Rund	E. coli O157	Metingen bij veld	On- bekend	0				
Von Salviati et al., 2015	Varken	ESBL/AmpC- E. coli	100 meter boven- winds van een bedrijf	18			1	5,6 %	319,0
			50 meter benedenwinds van een bedrijf	18			1	5,9 %	25,0
<b>Oppervlaktewater</b>									
Givens et al., 2016	Varken	E. coli O157		20	4	20,0%			
Haack et al., 2015	Varken	E. coli O157		25	4	16,0%			
		EHEC			22	88,0%			
		ETEC			19	76,0%			
		STEC			8	32,0%			
C. Jokinen et al., 2010a	Rund	E. coli O157		342	8	2,3%			
C.C. Jokinen et al., 2010b	Varken , rund	E. coli O157		186	5	2,7%			
Cooper et al., 2007	Varken	E. coli O157	50 meter benedenstreams	96	5	2,6%			
			500 meter benedenstreams	96	4	2,5%			
			Metingen bij veld	96	13	8,7%			
			Metingen bij veld	96	4	3,6%			
Renter et al., 2005	Varken , rund	STEC		389			35	9,0 %	
Johnson et al., 2003	Varken , rund	E. coli O157		1.483			13	0,9 %	
<b>Drinkwater</b>									
Schets et al., 2005	Niet bepaald	E. coli O157	Mogelijk fecale besmetting door landbouwhuis- dieren	147			5	3,4 %	

## 5.4 Blootstellings- en infectierisico's

Vier studies onderzochten de blootstellingswaarden van ziekteverwekkers in mest en de daaraan gerelateerde infectie- of ziekterisico's (Jahne et al., 2016, 2015a, 2015b; Soller et al., 2010). In deze paragraaf worden deze studies kort besproken.

### 5.4.1 *Wateroverdraagbare ziekteverwekkers*

Epidemiologisch onderzoek naar gezondheidsrisico's voor de mens door zwemmen in besmet oppervlaktewater is meestal gericht op oppervlaktewater onder invloed van lozingen van huishoudelijk afvalwater. De bijdrage van dierlijke fecale besmettingsbronnen is minder goed onderzocht.

Dit was aanleiding voor Soller et al. (2010) om risico's op maagdarminfecties (gastro-enteritis) door blootstelling aan oppervlaktewater dat besmet is met menselijke en dierlijke fecale bronnen kwantitatief te schatten en te vergelijken. De infectie- en ziekterisico's door blootstelling aan *E. coli* O157:H7, norovirus, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Cryptosporidium* spp. en *Giardia lamblia* werden geschat. Uitgezonderd het norovirus, zijn al deze ziekteverwekkers zoönotisch (van dier op mens overdraagbaar). De onderzoekers verzamelden gegevens over de concentraties pathogenen in mest van runderen, varkens, kippen en meeuwen, en in humaan afvalwater. De dosis-responsrelaties<sup>3</sup> werden verzameld uit de literatuur en met modellering vastgesteld.

Er werden ziektekansen voorspeld in de orde van minder dan 1% (ziekteverwekkers uit varkensmest) tot enkele tientallen procenten (ziekteverwekkers uit rundveemest) per keer zwemmen. Voor water onder invloed van rundveemest waren de ziektekansen door blootstelling aan *E. coli* O157:H7 het hoogst; daarna volgden *Campylobacter jejuni* en *Cryptosporidium* spp. Voor water onder invloed van varkensmest waren de ziektekansen door blootstelling aan *Campylobacter jejuni* het hoogst.

Soller et al. (2010) concludeerden dat de risico's op het optreden van gastro-enteritis door blootstelling aan oppervlaktewater dat onder invloed staat van rundveemest ongeveer even groot zijn als die door blootstelling aan oppervlaktewater dat onder invloed staat van afvalwater.

### 5.4.2 *Luchtoverdraagbare ziekteverwekkers*

Jahne et al. (2015a) onderzochten de concentraties bio-aerosolen rondom bemeste akkers en hoeveel bio-aerosolen uiteindelijk vanuit de lucht op het land terecht kwamen. Mest- en luchtmonsters werden onderzocht op de aanwezigheid van *E. coli* O157:H7, totale *E. coli*, enterokokken, *Salmonella* spp. en *Campylobacter* spp. Met de vastgestelde concentraties werden emissieprofielen berekend.

Met het atmosferisch luchtverspreidingsmodel AERMOD werd de verspreiding van de bacteriën door de lucht voorspeld; met een dosis-responsmodel werden vervolgens infectierisico's (mediaan en 95-percentiel)

<sup>3</sup> Middels een dosis-responsfunctie kan een blootstellingswaarde naar een infectierisico vertaald worden.

geschat. Deze infectierisico's, gebaseerd op een blootstellingsduur van 8 uur op afstanden van 100 en 1.000 meter, waren respectievelijk 1:25.000 en 1:50.000 voor *E. coli* O157:H7. In een vervolgonderzoek werden vergelijkbare resultaten gevonden (Jahne et al., 2015b).

Echter, aangezien de concentraties bepaald werden met de labtechniek *Polymerase Chain Reaction* (PCR) is het aannemelijk dat de gevonden infectierisico's werden overschat. Met deze techniek wordt namelijk de hoeveelheid DNA of RNA van een micro-organisme bepaald. Daarbij wordt geen onderscheid gemaakt tussen levende en dode micro-organismen. In werkelijkheid kunnen alleen levende of intact zijnde micro-organismen een infectie veroorzaken. Het is niet duidelijk hoe groot de overschatting is.

Jahne et al. (2016), ten slotte, richtten zich op de verspreiding van dezelfde ziekteverwekkers vanaf een bemeste akker naar gewassen op een andere akker en berekenden infectierisico's door consumptie hiervan. Emissieprofielen werden berekend aan de hand van inverse dispersiemodellering. Hierbij worden luchtmetingen gedaan op een bepaalde afstand vertaald naar de concentratiewaarden op 0 meter afstand van de akker. De gemiddelde infectierisico's waren 1:1.300, 1:6.700 en 1:92.000 als mensen op afstanden van 0, 100 en 1.000 meter blootgesteld zouden worden. De risico's op het 95<sup>e</sup> percentiel waren respectievelijk 1:18, 1:89, en 1:1.200.

## 5.5 Effecten van opslag en mestverwerking op de overlevingskansen van ziekteverwekkers in mest

Deze paragraaf beschrijft de resultaten van het literatuuronderzoek naar het effect van opslag en mestverwerkingstechnieken op de overlevingskansen van ziekteverwekkers in mest. Dit deelonderzoek richtte zich op een breder spectrum aan micro-organismen.

### 5.5.1 Opslag

#### Procesbeschrijving

Mestopslag vindt plaats binnen of buiten de stal gedurende enkele dagen tot een aantal maanden. Er wordt onderscheid gemaakt tussen opslag van drijfmest en vaste mest:

- Opslag van drijfmest vindt plaats in een kelder onder de geroosterde stalvloer. Er vindt continu aanvoer van verse mest plaats. Indien de mest wordt gebruikt voor biogasproductie bedraagt de opslagduur niet langer dan enkele dagen om vergisting in de stal te voorkomen. Zo niet, dan kan de verblijftijd in de stal oplopen tot een half jaar. Als de opslagcapaciteit in de stal ontoereikend is, wordt een deel van de mest buiten opgeslagen (soms tot een half jaar).
- Vaste mest van leghennen wordt één of enkele keren per week met mestbanden uit de stal verwijderd en vervolgens in een buitenopslag bewaard of direct afgevoerd. Vaste mest van dieren die op een dichte vloer op strooisel worden gehouden, verblijft langere tijd in de stal. Zo wordt vleeskuikenmest na elke productiecycclus (ca. 8 weken) verwijderd. Vaste mest van rundvee en varkens wordt niet vaker dan één of twee keer per jaar verwijderd.

### Effect van opslagduur en temperatuur op de overleving

De duur van de opslag en de temperatuur zijn het meest bepalend voor de overlevingskansen van micro-organismen. Tabel 3 toont het effect van temperatuur op de overleving van verschillende bacteriën in opgeslagen mest. Meestal neemt de concentratie van de onderzochte micro-organismen af. Afhankelijk van het micro-organisme, de temperatuur en de opslagduur werden micro-organismen tot zes maanden na opslag aangetoond. Dit betekent dat niet-verwerkte drijfmest die na opslag op het land wordt angewend nog steeds (ziekteverwekkende) micro-organismen kan bevatten.

De temperatuur in stallen en mest is niet alleen afhankelijk van het weer en het seizoen, maar ook van bedrijfsprocessen, warmteproductie door de dieren en (bij varkens) verwarming van de stallucht. Opgeslagen varkensmest is meestal warmer dan rundveemest.

Tabel 3. Effect van temperatuur op de overleving van verschillende bacteriën in opgeslagen mest. Aangegeven is het aantal dagen waarna geen levende micro-organismen meer werden aangetoond. De decimale reductietijd ( $D_t$ ) is de tijd die nodig is om de concentratie met één log<sub>10</sub>-eenheid te reduceren.

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Duur detectie [dagen]
Nicholson et al., 2005	Rund, varken, schaap	<i>E. coli</i> O157	15	90
		<i>Salmonella</i> spp.	15	90
		<i>Campylobacter</i> spp.	15	90
		<i>Listeria</i> spp.	15	180
Hutchison et al., 2004	Rund, varken	<i>Listeria</i> spp.	Variabel	$D_t = 114$
Côté et al., 2006	Varken	<i>E. coli</i>	4 – 16	54 – 114
Semenov et al., 2007	Rund	<i>E. coli</i> O157:H7	7 - 33	< 7 - 159
		<i>Salmonella typhimurium</i>	7 – 33	< 21 - 227
Vinneras, 2007	Varken	<i>Salmonella</i> spp.	14	$D_t = 25$
		<i>Enterococcus</i> spp.	20	$D_t < 9$
		<i>Clostridia</i> spp.	20	$D_t = 50$
		Fecale coliformen	20	$D_t > 50$
McCarthy et al., 2015	Varken	<i>Salmonella</i> spp.	10	84 - 112
Biswas et al., 2016	Rund	<i>Salmonella</i> spp.	30 – 50	3
		<i>Listeria monocytogenes</i>	30 – 50	3
		<i>E. coli</i>	30 - 50	> 13

### Effect van zuurstof op de overleving

Naast temperatuur speelt ook het zuurstofgehalte een rol bij de overleving van micro-organismen in mest. In vaste mest is – afhankelijk van de porositeit en het diertype – vooral sprake zijn van aerobe (zuurstofrijke) condities, terwijl in drijfmest vooral sprake is van een anaerobe (zuurstofarme) condities. De hoeveelheid zuurstof in mest is sterk bepalend voor de chemische processen die zich in de mest afspelen en daarmee voor de overlevingskansen van micro-organismen (Fremaux et al., 2007; Nicholson et al., 2005; Semenov et al., 2007).

Pandey et al. (2015) toonden aan dat *E. coli* in beluchte drijfmest sneller afsterft dan in niet-beluchte drijfmest: onder anaerobe omstandigheden bij 25, 37 en 52,5 °C werd een 3-log reductie van de concentratie gemeten na respectievelijk 35, 32 en 2,5 dagen. Onder aerobe omstandigheden werd deze reductie al bereikt na resp. 15, 5 en 2 dagen. Voor *E. coli* O157:H7 in rundveemest schatten Semenov et al., (2011) de overlevingstijd op 17 (aeroob) en 45 (anaeroob) dagen bij 16 °C.

### 5.5.2 Anaerobe vergisting

#### Procesbeschrijving

Mestvergisting is een anaeroob biologisch proces waarbij een deel van de organische stof in de mest wordt omgezet in biogas dat voornamelijk bestaat uit methaan (CH<sub>4</sub>) en kooldioxide (CO<sub>2</sub>). Naast mest kunnen ook andere grondstoffen worden gebruikt met als doel de gasopbrengst te vergroten (bijvoorbeeld met snijmais, glycerine, vet en reststromen van levensmiddelen). In dat geval spreekt men van co-vergisting. Vergisting van het mengsel van drijfmest en co-producten gebeurt in een volledig geroerde en verwarmde tank. Er wordt onderscheid gemaakt tussen thermofiele (50-55 °C), mesofiele (30-45 °C) en psychrofiele (< 20 °C) vergisting.

#### Effect op micro-organismen

Anaerobe vergisting kan leiden tot inactivatie van micro-organismen. Daardoor verbetert de 'hygiënische kwaliteit' als het gaat om niet-sporenvormende micro-organismen (Fröschle et al., 2015). Ook hierbij is de temperatuur zeer bepalend voor de mate van inactivatie. Bij thermofiele vergisting kan veel inactivatie optreden, terwijl het effect bij mesofiele en psychrofiele vergisting aanzienlijk kleiner is. Eén studie beschrijft zelfs groei van micro-organismen bij lage temperaturen, zoals van *Clostridium cellulolyticum* (Fröschle et al., 2015).

Tabel 4. Effect van temperatuur en behandelingsduur op de overleving van verschillende bacteriën bij anaerobe vergisting. Betekenis van <LOD: beneden detectiegrens ('limit of detection').

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Behandelingsduur	Reductie [log]
Kearney et al., 1993	Rund	<i>Yersinia enterocolicita</i>	28	18 dagen	1
		<i>Listeria monocytogenes</i>		28 dagen	
		<i>Salmonella typhimurium</i>		35 dagen	
		<i>Escherichia coli</i>		77 dagen	
		<i>Campylobacter jejuni</i>		439 dagen	
Côté et al., 2006	Varken	Totale coliformen	20	20 dagen	< LOD
		<i>Escherichia coli</i>		20 dagen	
		<i>Salmonella</i> spp.		20 dagen	
		<i>Cryptosporidium</i> spp.		20 dagen	
		<i>Giardia</i> spp.		20 dagen	
Aitken et al., 2007	Rund	<i>Escherichia coli</i>	50	3 uur	< LOD
		<i>Escherichia coli</i>	55	10 min.	
Bonetta et al., 2011	Rund	<i>Escherichia coli</i>	Onbekend	13 dagen	1,6 – 3,1
		Totale <i>Enterobacteriaceae</i>			
		<i>Enterococcus</i> spp.			
Pandey and Soupir, 2011	Rund	<i>Escherichia coli</i>	25	> 60 dagen	< LOD
			37	> 42 dagen	< LOD
			52,5	< 4 dagen	< LOD

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Behandeldingsduur	Reductie [log]
Hoeksma et al., 2015	Varken	<i>Escherichia coli</i>	37	40	2,5
		<i>Salmonella</i> spp.			1,6
		Somatische colifagen			1,4
McCarthy et al., 2015	Varken	Coliformen	Mesofiel	30	1,6
		<i>Escherichia coli</i>			2,0
		<i>Enterococcus</i> spp.			1,9

### 5.5.3 Biologische zuivering

#### Procesbeschrijving

Biologische zuivering is een proces om met name stikstof uit mest te verwijderen. Het wordt vooral toegepast op kalvergiel, maar soms ook op dunne mestfracties. Bij dit proces is afwisselend sprake van aerobe en anaerobe condities.

#### Effect op micro-organismen

Tabel 5 toont het effect van biologische zuivering op de inactivatie van micro-organismen. Biologische zuivering heeft een substantieel effect op de inactivatie van micro-organismen.

Tabel 5. Effect biologische zuivering op de overleving van verschillende bacteriën. Betekenis van <LOD: beneden detectiegrens ('limit of detection').

Publicatie	Dier	Bacterie	Behandeldingsduur [dagen]	Temperatuur [°C]	Reductie [log]
Vanotti et al., 2005	Varken	<i>Salmonella</i> spp.	3,1	n.b.	1,7
		Fecale coliformen			3,9
		<i>Enterococcus</i> spp.			3,2
		Totale coliformen			3,7
Bauza-Kaszewska et al., 2015	Varken	<i>Salmonella</i> spp.	12	35	6,7
		<i>Enterococcus</i> spp.			4,3
Pandey et al., 2016	Rund	<i>Salmonella</i> spp.	4 (alleen nitrificatie)	36	< LOD
		<i>Escherichia coli</i>	12 (alleen nitrificatie)		

### 5.5.4 Mechanische scheiding

#### Procesbeschrijving

Mestscheiding wordt toegepast om mest te scheiden in een dikke (15-20%) en dunne (80-85%) fractie. De dikke fractie bevat een groot deel van het fosfaat; de dunne fractie bevat het overgrote deel van de stikstof en het kalium. Jaarlijks wordt in Nederland ongeveer 3 à 4 miljoen ton drijfmest en digestaat gescheiden. Dikke fracties zijn meestal bestemd voor export; dunne fracties worden vooral uitgereden op Nederlandse landbouwgrond. De meest gebruikte mestscheidingstechnieken zijn vijzelpersen, centrifuges en zeefbandpersen. Centrifuges en zeefbandpersen halen een hoger scheidingsrendement dan vijzelpersen. Bij vijzelpersen worden vaak chemische hulpstoffen toegepast om een hoger rendement te behalen. Bij centrifuges zorgt de centrifugaalkracht er voor dat ook relatief kleine deeltjes worden afgescheiden.

### Effect op micro-organismen

Tabel 6 toont het effect van mestscheiding op de inactivatie van micro-organismen. De meeste in Nederland toegepaste mechanische scheidingstechnieken hebben dus geen of een beperkt effect op het overleven van micro-organismen. De micro-organismen verdelen zich evenredig over de dikke en de dunne fractie. Het gebruik van flocculanten kan de inactivatie wel versterken.

Tabel 6. Effect van verschillende mechanische scheidingstechnieken op de overleving van micro-organismen. Betekenis van <LOD: beneden detectiegrens ('limit of detection').

Publicatie	Dier	Techniek	Bacterie	Reductie [log]			
				Dikke fractie	Dunne fractie		
McCarthy et al., 2013	Varken	Zeefbandpers	<i>Escherichia coli</i>	0	1		
			Fecale coliformen	-0,9	-0,7		
			<i>Enterococcus</i> spp.	0	1		
		Centrifuge	<i>Escherichia coli</i>	1,5	4		
			Fecale coliformen	0	2		
			<i>Enterococcus</i> spp.	1	4		
Riaño and García-González, 2014	Varken	Vijzelpers	<i>Escherichia coli</i>	0	0		
			<i>Salmonella</i> spp.	0	0		
		Flocculatie	<i>Escherichia coli</i>	1	1		
			<i>Salmonella</i> spp.	1	1		
Viancelli et al., 2015	Varken	Toevoegen van kalk (pH = 9)	<i>Escherichia coli</i>	1	0		
			<i>Salmonella typhymurium</i>	0	0		
			Porcine circovirus	2	4		
		Toevoegen van kalk (pH = 10)	<i>Escherichia coli</i>	< LOD	< LOD		
			<i>Salmonella typhymurium</i>	< LOD	< LOD		
			Porcine circovirus	< LOD	< LOD		
McCarthy et al., 2015	Varken	Centrifuge	<i>Salmonella</i> spp.	0	0		
Hoeksma et al., 2015	Varken	Zeefbandpers (met toevoeging van polyacrylamide)	<i>Escherichia coli</i>	-0.6	0.2		
			<i>Enterococcus</i> spp.	-0.3	1		
			<i>Salmonella</i> spp.	-0.1	-0.3		
			MRSA	-0.2	0.1		
			ESBL- <i>E. coli</i>	-0.3	0		
			Somatische colifagen	-0.1	0.6		
			Hepatitis E-virus	0.1	0.9		
Liu et al., 2016	Rund	Toevoegen van coagulant/flocculant	<i>Escherichia coli</i>	afhankelijk van dosering			
			Trommelscheider	<i>Escherichia coli</i>	0	0	
		Vijzelpers	Totale coliformen	0	0		
			<i>Escherichia coli</i>	0	0		
		Dissolved air flotation	Totale coliformen	0	0		
			<i>Escherichia coli</i>	0	0		
		Liu et al., 2017	Rund	Centrifuge	<i>Escherichia coli</i>	2	2
					Totale coliformen	2	2



### 5.5.5 Compostering

#### Procesbeschrijving

Compostering is een aerob proces. Afhankelijk van de verhouding koolstof en stikstof kan de temperatuur oplopen tot boven de 60 °C. Een composthoop dient regelmatig 'omgezet' en belucht te worden om ervoor te zorgen dat het proces optimaal kan verlopen en de optimale temperatuur gehandhaafd blijft (Hamelers, 2001). Onder bepaalde omstandigheden (afhankelijk van temperatuur, vochtgehalte, beschikbaarheid voedingsstoffen) kan na compostering vanuit een gering aantal cellen groei van micro-organismen optreden (Kim et al., 2009).

#### Effect op micro-organismen

Tabel 7 toont het effect van compostering op de overleving van micro-organismen. Het effect van compostering is in sterke mate afhankelijk van de temperatuur. Doorgaans wordt een temperatuur boven de 55 °C bereikt, waarbij de overlevingsduur van de meeste micro-organismen en virussen beperkt is tot enkele dagen.

Tabel 7. Effect van aerobe compostering op de overleving van micro-organismen (CN = koolstof/nitraat-verhouding). Betekenis van <LOD: beneden detectiegrens ('limit of detection').

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Behandelingsduur	Reductie [log]	
Grewal et al., 2006	Rund	<i>Escherichia coli</i>	55	3 dagen	< LOD	
		<i>Salmonella</i> spp.				
		<i>Listeria</i> spp.				
		<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>				
Fremaux et al., 2007	Rund	Shiga-toxin producerende <i>Escherichia coli</i> (STEC)	35	90 dagen	< LOD	
			65	9 dagen		
McCarthy et al., 2011	Varken	<i>Escherichia coli</i>	65 (max.)	7 dagen	< LOD	
		<i>Enterococcus</i> spp.		56 dagen		
		Fecale coliformen				2,5
		<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Clostridium sporogenes</i>				0 0
Erickson et al., 2009	Rund (CN: 20: 1)	<i>E. coli</i> O157:H7	59 (max.)	3 dagen	< LOD	
		<i>Listeria monocytogenes</i>		4 dagen		
	Rund (CN: 40: 1)	<i>E. coli</i> O157:H7		5 dagen		
		<i>Listeria monocytogenes</i>		4 dagen		
Hoeksma et al., 2015	Rund	<i>Escherichia coli</i>	60 - 70	1 dag	2,5	
		<i>Enterococcus</i> spp.			3,8	
		Somatische colifagen			3,9	

### 5.5.6 Verhitting (pasteurisatie)

#### Procesbeschrijving

Verhitting is de enige mestbehandeling die primair wordt toegepast om micro-organismen zo effectief mogelijk te verwijderen om mest te mogen verhandelen tussen EU-landen. In het algemeen wordt 55 °C als kritische temperatuur beschouwd, waarboven de meeste micro-organismen verwijderd worden.

#### Effect op micro-organismen

Tabel 8 toont het effect van verhitting op het overleven van een aantal micro-organismen.

Tabel 8. Effect van verhitting op de overleving van micro-organismen. Betekenis van <LOD: beneden detectiegrens ('limit of detection').

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Behandelingsduur	Reductie [log]
Turner, 2002	Varken	<i>E. coli</i> 11943	55	2 uur	<LOD
Bagge et al., 2006	Rund/ varken	<i>E. coli</i>	70	1 uur	'niet volledig'
		<i>Enterococcus</i> spp. Coliformen			'niet volledig'
		<i>Bacillus</i> spp.			0
		<i>Clostridium</i> spp.			0
Sahlström et al., 2008	Niet bekend	<i>E. coli</i> O157	55	30 min	'niet volledig'
			55	60 min	<LOD
			70	30 min	<LOD
			70	60 min	<LOD
		<i>S. typhimurium</i>	55	30 min	'niet volledig'
			55	60 min	<LOD
			70	30 min	<LOD
			70	60 min	<LOD
		<i>Enterococcus</i> spp.	55	30 min	'niet volledig'
			55	60 min	'niet volledig'
			70	30 min	<LOD
			70	60 min	<LOD
		<i>C. perfringens</i>	55	30 min	0
			55	60 min	0
			70	30 min	0
			70	60 min	0
		<i>Porcine parvovirus</i>	55	30 min	1,1
			55	60 min	1,6
			70	30 min	2,7
			70	60 min	3,2
<i>Salmonella phage 28B</i>	70	30 min	0		
	70	60 min	0		
	55	30 min	1,4		
	55	60 min	1,8		
	70	30 min	> 6,0		
	70	60 min	> 6,0		
Watcharasukarn et al., 2009	Rund	<i>E. coli</i>	37	15 dagen	<LOD
			55	48 uur	<LOD
			70	24 uur	<LOD
		<i>Enterococcus faecalis</i>	37	15 dagen	3,1
			55	48 uur	1,7
			70	24 uur	1,8
			37	15 dagen	1,4
		<i>C. perfringens</i>	55	48 uur	< 1
			70	24 uur	< 1
Cunault et al., 2011	Varken	<i>E. coli</i>	60	1 uur	<LOD
			70	10 min	<LOD
		<i>Enterococcus</i> spp.	60	1 uur	<LOD
			70	10 min	<LOD
		Somatische fagen	60	1 uur	0
			70	10 min	0
			96	10 min	'niet volledig'
		<i>Clostridium</i> spp.	60	1 uur	0

Publicatie	Dier	Bacterie	Temperatuur [°C]	Behandelingsduur	Reductie [log]
			70 96	10 min 10 min	0 'niet volledig'
Hoeksma et al., 2015	Rund	<i>E. coli</i>	70	1 uur	2,6
		<i>Salmonella</i>	70 70	1 uur	0,2
		<i>Enterococcus spp.</i>	70	1 uur	2,8
		Somatische colifagen	70	1 uur	3,9

#### 5.5.7 Membraanfiltratie

Omgekeerde osmose is de meest vergaande vorm van membraanfiltratie. Deze techniek wordt bijvoorbeeld toegepast bij het bereiden van drinkwater uit zeewater. Bij omgekeerde osmose wordt de ingaande vloeistof onder hoge druk (40-60 bar) tegen de osmotische druk in door een zeer fijn membraan (0,1-1 nanometer) geperst dat uitsluitend doorlaatbaar is voor water en gasvormige verbindingen. Gesuspendeerd materiaal, inclusief bacteriën en virussen, en opgeloste stoffen worden niet doorgelaten en blijven achter in het concentraat. Omgekeerde osmose kan een volledig microbiologisch 'schoon' permeaat opleveren mits de membranen in goede conditie worden gehouden.

Hoeksma et al. (2015) onderzochten het effect op het overleven van micro-organismen en virussen in een systeem met omgekeerde osmose in vijf mestverwerkers. De reductie in concentraties bedroegen voor *E. coli*, *Enterococcus spp.*, *Salmonella spp.*, somatische colifagen en het hepatitis E-virus respectievelijk 3,5 log, 3,2 log, 0,5 log, 4,7 log en 3,0 log. De onderzoekers vonden vrijwel geen micro-organismen terug in het effluent (permeaat). De onderzochte micro-organismen bleken bestand te zijn tegen de hoge procesdruk, aangezien ze nog wel in het concentraat aanwezig waren.



## 6 Conclusies en duiding

In dit rapport is verkend in welke mate ziekteverwekkende micro-organismen (pathogenen) aanwezig kunnen zijn in mest en welke mogelijke gevolgen dit heeft voor de gezondheid door blootstelling hieraan via het milieu. De focus lag op rundvee- en varkensmest als bronnen en de pathogene *Escherichia coli* en meticilline-resistente *Staphylococcus aureus* als ziekteverwekkers. Daarnaast is onderzocht wat het effect van verschillende mestverwerkingstechnieken is op de overleving van een groot aantal micro-organismen, waaronder pathogenen.

### 6.1 Conclusies

Dit onderzoek is opgezet volgens de stappen van een kwantitatieve microbiologische risicoanalyse (QMRA), die bestaat uit:

1. het in kaart brengen van de bronnen, bijvoorbeeld akkers waarvandaan mest afspoelt tijdens buien;
2. Het bepalen van emissiewaarden vanuit de bronnen;
3. Het berekenen van de verspreiding van pathogenen in het milieu, leidend tot blootstellingswaarden op plaatsen waar mensen met de pathogenen in aanraking komen, en
4. Het vertalen van de blootstellingswaarden naar een infectierisico per ziekteverwekker middels een dosis-responsfunctie.

#### 6.1.1 *Pathogenen in mest*

Mest kan grote aantallen micro-organismen bevatten, gemiddeld miljoenen tot honderden miljoenen bacteriën per gram mest, waarvan een gedeelte ziekteverwekkend kan zijn. In de beoordeelde wetenschappelijke studies werden pathogene *E. coli*-bacteriën aangetoond in 17% van de onderzochte monsters rundveemest. Gemiddeld was 43% van de varkensmestmonsters positief voor pathogene *E. coli*. Een beperkt aantal publicaties heeft ook de concentraties (aantallen levende bacteriën) van pathogene *E. coli* bepaald. Deze lagen in de orde van 1.000 kolonievormende eenheden (kve) per gram mest. MRSA-bacteriën werden slechts in twee publicaties onderzocht en werden alleen aangetoond in varkensmest.

#### 6.1.2 *Verspreiding via het milieu*

Na toepassing van mest op het land kunnen pathogenen in het milieu, zoals het oppervlaktewater, het grondwater of de buitenlucht, terecht komen. In totaal werden 12 publicaties beoordeeld waarin de verspreiding van pathogene *E. coli* naar het milieu werd beschreven. Daarbij werd oppervlaktewater het meest bemonsterd, waarvan het percentage positieve monsters varieerde tussen de 2,3% en 88%. Er werden geen publicaties gevonden over MRSA-bacteriën die vanuit mest in het milieu terecht zijn gekomen.

#### 6.1.3 *Risico's voor de gezondheid*

In dit rapport werd één publicatie onderzocht waarin infectierisico's door inname van besmet oppervlaktewater berekend werden. Daarin werden ziektekansen geschat in de orde van minder dan 1% (voor *E. coli* O157

uit varkensmest) tot enkele tientallen procenten (voor *E. coli* O157 uit rundveemest).

Daarnaast richtte een reeks van drie publicaties zich op mogelijke infectierisico's door verspreiding via de buitenlucht vanaf een bemeste akker. Met een atmosferisch rekenmodel werden infectierisico's geschat door blootstelling aan pathogene *E. coli* gedurende acht uur op 100 en 1.000 meter afstand. Geschat werd dat slechts één op iedere 25.000 respectievelijk 50.000 mensen geïnfecteerd zou worden. De concentratiewaarden in deze studie waren echter niet gebaseerd op levende micro-organismen, maar op het totaal DNA.

#### 6.1.4 *Effecten van mestverwerking*

Aanvullend zijn in dit rapport de effecten van mestverwerkings-technieken op de overleving van een groot aantal micro-organismen, waaronder pathogenen, onderzocht. Daarbij leidden een hogere temperatuur en een langere behandelingsduur vrijwel altijd tot meer afsterving (inactivatie) van micro-organismen.

De volgende technieken werden onderzocht:

- *Opslag* van mest heeft een reducerend effect op de concentratie van de meeste onderzochte micro-organismen. Echter, onder gemiddelde Nederlandse omstandigheden (met mesttemperaturen van 10 tot 20 °C) is de inactivatie beperkt en kan onbehandelde drijfmest nog altijd aanzienlijke concentraties micro-organismen bevatten.
- Ook *anaerobe vergisting* kan leiden tot inactivatie van micro-organismen. Vergisting bij temperaturen van 50 tot 55 °C (thermofiel) is het meest effectief en kan voor sommige micro-organismen resulteren in vrijwel volledige inactivatie. Bij mesofiele (ongeveer 35 tot 40 °C) en psychrofiele (temperaturen lager dan 20 °C) vergisting is de hoeveelheid inactivatie veel kleiner.
- Ook het effect van (aerobe) *compostering* is in sterke mate afhankelijk van de temperatuur die tijdens het proces wordt bereikt. Bij een temperatuur van 60 °C of hoger wordt een sterke inactivatie bereikt. Ook door regelmatig zuurstof toe te voegen aan een composthoop wordt de inactivatie vergroot.
- Alléén thermische behandeling (door *verhitting* of compostering) wordt primair toegepast om de concentraties van pathogenen in mest te verlagen, om zo te kunnen voldoen aan de exporteisen van de Europese Commissie. In het algemeen wordt 55 °C als kritische temperatuur beschouwd, waarboven een effectieve inactivatie van micro-organismen optreedt. Sporen van bijvoorbeeld *Coxiella burnetii* of *Cryptosporidium* spp. worden bij deze temperatuur doorgaans niet geïnactiveerd.
- Ten slotte is *omgekeerde osmose* effectief om micro-organismen te verwijderen, mits de installatie in goede staat wordt gehouden en beschadigingen aan het membraan worden voorkomen. Na toepassen van omgekeerde osmose blijven (nagenoeg) alle ziekteverwekkers in het concentraat achter.

## 6.2 Kwantitatieve microbiologische risicoanalyse (QMRA)

Voor elk van de stappen van een QMRA zijn microbiologische data en/of rekenmodellen vereist. Idealiter bestaan microbiologische data uit concentratiebepalingen van levende pathogenen. Bij metingen in mest dient daarbij rekening gehouden te worden met verschillen tussen dieren en daarmee tussen bedrijven. Zo scheiden dieren die drager zijn van *E. coli* O157 gemiddeld minder dan 100 kve/gram feces uit, maar zijn er uitschieters mogelijk van 1 miljoen tot 10 miljoen kve/gram feces (Rhoades et al., 2009). Ook factoren als de temperatuur, voedingspatronen of de aanwezigheid van vliegen kunnen invloed hebben op de individuele uitscheidingswaarden en daarmee op de concentraties pathogenen in mest per bedrijf (Money et al., 2010). Daarnaast is het belangrijk rekening te houden met verschillen tussen diertype. Zo wordt *E. coli* O157 vooral door rundvee uitgescheiden en in mindere mate door varkens en pluimvee (Bach et al., 2002; Dufour et al., 2012).

Blaustein et al. (2015) geven een overzicht van rekenmodellen waarmee emissiewaarden van pathogenen uit mest naar het oppervlaktewater bepaald kunnen worden. Ook voor het schatten van infectierisico's door blootstelling aan verschillende pathogenen via inname van besmet drink- of oppervlaktewater zijn rekenmodellen beschikbaar, ook voor blootstelling in een veranderend klimaat (Schijven et al., 2015a, 2013, 2011). Ten slotte werkt het RIVM aan de ontwikkeling van een QMRA-model om de verspreiding van ziekteverwekkers door de lucht te berekenen (Hagenaars et al., 2017; Van Leuken et al., 2015).

Een QMRA-analyse kan ook toegepast worden om mogelijke kennishiaten bloot te leggen en hiermee eventueel toekomstig onderzoek naar de gezondheidsrisico's van pathogenen in mest te prioriteren.

## 6.3 Inactivatie van pathogenen in het milieu

De omstandigheden in het milieu hebben veel invloed op de overleving van pathogenen in mest en daarmee op de uiteindelijke rol die het milieu speelt in de blootstelling (Topp et al., 2009). Bij het bepalen van concentraties pathogenen in het milieu is het dus belangrijk de milieu-omstandigheden goed in beeld te brengen. Belangrijke variabelen die de inactivatie beïnvloeden zijn UV-straling en temperatuur (Bicudo en Goyal, 2003; Dufour et al., 2012; Franz et al., 2014; Venglovsky et al., 2009). Ook het type bodem en de hoeveelheid nutriënten kunnen een belangrijke rol spelen, zoals bij de *E. coli* O157-bacterie die in bodems twee tot vier maanden in leven kan blijven (Franz et al., 2014, 2008). Ook de pH-waarde van de bodem speelt een rol (Venglovsky et al., 2009).

In geïnjecteerde mest – de meest toegepaste techniek in Nederland voor drijfmest – overleven pathogenen langer dan in oppervlakkig aangewende (vaste) mest (Hodgson et al., 2016; Hutchison et al., 2004). Pathogenen in geïnjecteerde mest zijn namelijk minder onderhevig aan stressfactoren, zoals UV-straling (Blaustein et al., 2015). Wel kunnen pathogenen aan de binnenzijde van (vaste) mest makkelijker overleven (Blaustein et al., 2015). Verder spoelt geïnjecteerde mest makkelijker uit naar het grondwater, maar weer minder makkelijk naar het oppervlaktewater (Blaustein et al., 2015). Ten slotte is oppervlakkig aangebrachte mest meer onderhevig aan de

vorming van aerosolen, waardoor pathogenen makkelijker door de lucht verspreid kunnen worden (Jahne et al., 2016, 2015a, 2015b).

#### 6.4 Andere pathogenen

Dit onderzoek richtte zich op de pathogene *E. coli* en MRSA, die respectievelijk goed in water en lucht overleven. Andere belangrijke uit dierlijke feces afkomstige wateroverdraagbare pathogenen zijn in ieder geval de bacteriën *Bacillus anthracis*, *Brucella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira interrogans*, *Mycobacterium* spp. en *Salmonella enterica*, en de parasieten *Cryptosporidium parvum*, *Giardia duodenalis*, *Toxoplasma* spp., en *Entamoeba histolytica* (Bicudo en Goyal, 2003; Dufour et al., 2012; Dungan, 2010). Daarnaast kunnen ook virussen van belang zijn, zoals het hepatitis E-virus (Rutjes et al., 2007).

In eerder RIVM-onderzoek werd de verspreiding van *Cryptosporidium* spp. en *Giardia* spp. uit mest van vleeskalveren, melkkoeien, vleeskuikens en leghennen naar het oppervlaktewater onderzocht (Schijven et al., 1999). Geconcludeerd werd dat uit mest van vleeskalveren jaarlijks ongeveer  $10^{16}$  (*Cryptosporidium* spp.) en  $10^{15}$  (*Giardia* spp.) (oö)cysten verspreid werden. De bijdrage van melkkoeien en pluimvee was minder duidelijk. Ter vergelijking werd ook de bijdrage van humaan afvalwater aan de concentraties van deze parasieten in het oppervlaktewater onderzocht. Per jaar werden hieruit ongeveer  $10^{14}$  (oö)cysten geëmitteerd. Mest bleek dus een belangrijke rol te spelen in de belasting van pathogenen aan het oppervlaktewater.

#### 6.5 Bijdrage aan de ziektelast in Nederland

Op dit moment is onbekend of en in hoeverre verspreiding van pathogenen uit mest via het milieu bijdraagt aan het optreden van ziekte bij mensen. Verschillende epidemiologische studies wijzen mest aan als risicofactor voor het optreden van infecties (Belongia et al., 2003; Casey et al., 2016; Ihekweazu et al., 2004; Van Duynhoven et al., 2002), maar het aantal gepubliceerde QMRA-studies hierover is nog erg beperkt. Ook is niet duidelijk in hoeverre de risico's voor de gezondheid verschillen tijdens een uitbraaksituatie, zoals tijdens de Q-koortsepidemie van 2007-2010.

De meeste in dit onderzoek beoordeelde studies hebben betrekking op andere landen. In Nederland is de dichtheid van veehouderijen echter zeer groot en wonen relatief veel mensen dichtbij veehouderijen (Hagenaars et al., 2017; Maassen et al., 2016). De verwachting is dat daarmee de druk van pathogenen uit mest op het milieu dan ook groter is, wat de risico's voor de gezondheid mogelijk vergroot. Eerder RIVM-onderzoek liet zien dat Nederlands oppervlaktewater vlakbij pluimveebedrijven hogere concentraties extended-spectrum betalactamase-producerende (ESBL) *E. coli* bevatte dan oppervlaktewater dat onder invloed stond van rioolwaterzuiveringsinstallaties (Schijven et al., 2015b).

#### 6.6 Emissie uit mestverwerkers

Mestverwerking blijkt tot een sterke inactivatie van micro-organismen te leiden. Emissie vanuit mestverwerkers naar het oppervlaktewater lijkt



onwaarschijnlijk, gegeven de grote mate van verwijdering door omgekeerde osmose. Wel is nog onduidelijk in hoeverre emissie kan optreden vanuit luchtwassers van mestverwerkers en of dit gevolgen heeft voor de gezondheid. Ook is onduidelijk in hoeverre dit zich verhoudt tot emissies van pathogenen vanaf bemeste akkers. Belangrijke verschillen die daarbij in ogenschouw genomen moeten worden, zijn de tijdschaal (mestverwerkers zijn het hele jaar actief) en de hoeveelheden mest.



## 7 Referenties

- Acton, D.S., Tempelmans Plat-Sinnige, M.J., Van Wamel, W., De Groot, N., Van Belkum, A., 2009. Intestinal carriage of *Staphylococcus aureus*: how does its frequency compare with that of nasal carriage and what is its clinical impact? *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* 28, 115–127. doi:10.1007/s10096-008-0602-7
- Aitken, M.D., Sobsey, M.D., Van Abel, N.A., Blauth, K.E., Singleton, D.R., Crunk, P.L., Nichols, C., Walters, G.W., Schneider, M., 2007. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 during thermophilic anaerobic digestion of manure from dairy cattle. *Water Res.* 41, 1659–1666. doi:10.1016/j.watres.2007.01.034
- Ammerlaan, H.S.M., Kluytmans, J.A.J.W., Wertheim, H.F.L., Nouwen, J.L., Bonten, M.J.M., 2009. Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage: A Systematic Review. *Healthc. Epidemiol.* 48. doi:10.1086/597291
- Bach, S.J., McAllister, T.A., Veira, D.M., Gannon, V.P.J., Holley, R.A., 2002. Transmission and control of *Escherichia coli* O157:H7 — A review. *Can. J. Anim. Sci.* 82, 475–490.
- Bagge, E., Sahlström, L., Albihn, A., 2006. The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants. *Water Res.* 39, 4879–4886. doi:10.1016/j.watres.2005.03.016
- Bauza-Kaszewska, J., Paluszak, Z., Olszewska, H., 2015. Aeration as an effective method for pathogen elimination in pig slurry. *Annu. Anim. Sci.* 15, 737–745. doi:10.1515/aoas-2015-0011
- Belongia, E.A., Chyou, P., Greenlee, R.T., Perez-perez, G., Bibb, W.F., Devries, E.O., 2003. Diarrhea Incidence and Farm-Related Risk Factors for *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* Antibodies among Rural Children. *J. Infect. Dis.* 187, 1460–1468.
- Bertrand, I., Schijven, J.F., Sánchez, G., Wyn-Jones, P., Ottoson, J., Morin, T., Muscillo, M., Verani, M., Nasser, A., De Roda Husman, A.M., Myrmel, M., Sellwood, J., Cook, N., Gantzer, C., 2012. The impact of temperature on the inactivation of enteric viruses in food and water : a review. *J. Appl. Microbiol.* 112, 1059–1074. doi:10.1111/j.1365-2672.2012.05267.x
- Bicudo, J.R., Goyal, S.M., 2003. Pathogens and manure management systems: a review. *Environ. Technol.* 24, 115–130. doi:10.1080/09593330309385542
- Biswas, S., Pandey, P.K., Farver, T.B., 2016. Assessing the impacts of temperature and storage on *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *L. monocytogenes* decay in dairy manure. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 39, 901–913. doi:10.1007/s00449-016-1569-x
- Blaustein, R.A., Pachepsky, Y.A., Shelton, D.R., Hill, R.L., 2015. Release and Removal of Micro-organisms from Land-Deposited Animal Waste and Animal Manures: A Review of Data and Models. *J. Environ. Qual.* 44, 1338–1354. doi:10.2134/jeq2015.02.0077
- Bonetta, S., Ferretti, E., Bonetta, S., Fezia, G., Carraro, E., 2011. Microbiological contamination of digested products from anaerobic co-digestion of bovine manure and agricultural. *Lett. Appl. Microbiol.* 53, 552–557. doi:10.1111/j.1472-765X.2011.03148.x
- Casey, J.A., Curriero, F.C., Cosgrove, S.E., Nachman, K.E., Schwartz, B.S., 2016. High-Density Livestock Operations, Crop Field

- Application of Manure, and Risk of Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in Pennsylvania. *J. Am. Med. Assoc.* 173, 1980–1990.  
doi:10.1001/jamainternmed.2013.10408
- CBS, 2017. Dierlijke mest; productie en mineralenuitscheiding; bedrijfstype, regio [Dutch] [WWW Document]. URL <http://statline.cbs.nl/StatWeb/publication/?VW=T&DM=SLNL&PA=82506NED&LA=NL> (accessed 5.15.17).
- Cooper, I.R., Taylor, H.D., Hanlon, G.W., 2007. Virulence traits associated with verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157 recovered from freshwater biofilms. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1293–1299.  
doi:10.1111/j.1365-2672.2006.03178.x
- Côté, C., Massé, D.I., Quessy, S., 2006. Reduction of indicator and pathogenic micro-organisms by psychrophilic anaerobic digestion in swine slurries. *Bioresour. Technol.* 97, 686–691.  
doi:10.1016/j.biortech.2005.03.024
- Cunault, C., Pourcher, A.M., Burton, C.H., 2011. Using temperature and time criteria to control the effectiveness of continuous thermal sanitation of piggery effluent in terms of set microbial indicators. *J. Appl. Microbiol.* 111, 1492–1504. doi:10.1111/j.1365-2672.2011.05144.x
- Dufour, A., Bartram, J., Bos, R., Gannon, V., 2012. *Animal Waste, Water Quality and Human Health*. World Health Organisation (WHO), London.
- Dungan, R.S., 2010. Board-invited review: Fate and transport of bioaerosols associated with livestock operations and manures. *J. Anim. Sci.* 88, 3693–3706. doi:10.2527/jas.2010-3094
- Erickson, M.C., Liao, J., Ma, L., Jiang, X., Doyle, M.P., Erickson, M.C., Liao, J., Ma, L., Jiang, X., Doyle, M.P., 2009. Pathogen Inactivation In Cow Manure Compost. *Compost Sci. Util.* 17, 229–236.  
doi:10.1080/1065657X.2009.10702428
- Fairbrother, J.M., Nadeau, É., 2006. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals Hazard identification and characterisation. *Rev. Sci. Tech.* 25, 555–569.
- Franz, E., Schijven, J., De Roda Husman, A.M., Blaak, H., 2014. Survival of commensal and pathogenic *Escherichia coli* in soil and water: a systematic review and meta-regression analysis. *Environ. Sci. Technol.* 48, 6763–6771. doi:10.1021/es501677c
- Franz, E., Semenov, A. V, Termorshuizen, A.J., De Vos, O.J., Bokhorst, J.G., Van Bruggen, A.H.C., 2008. Manure-amended soil characteristics affecting the survival of *E. coli* O157:H7 in 36 Dutch soils. *Environ. Microbiol.* 10, 313–327. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01453.x
- Fremaux, B., Delignette-Muller, M.L., Prigent-Combaret, C., Gleizal, A., Vernozy-Rozand, C., 2007. Growth and survival of non-O157:H7 Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* in cow manure. *J. Appl. Microbiol.* 102, 89–99. doi:10.1111/j.1365-2672.2006.03059.x
- Friesema, I.H.M., Kuiling, S., Van der Voort, M., In 't Veld, P.H., Heck, M.E.O.C., Van Pelt, W., 2016. Surveillance van shigatoxine-producerende *Escherichia coli* (STEC) in Nederland, 2015 [Dutch]. *Infectieziektenbulletink*.
- Fröschle, B., Heierman, M., Lebuhn, M., Messelhäusser, U., Plöchl, M., 2015. Hygiene and Sanitation in Biogas Plants. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 151.

- Givens, C.E., Kolpin, D.W., Borchardt, M.A., Duris, J.W., Moorman, T.B., Spencer, S.K., 2016. Detection of hepatitis E virus and other livestock-related pathogens in Iowa streams. *Sci. Total Environ.* 566–567, 1042–1051. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.05.123
- Grewal, S.K., Rajeev, S., Sreevatsan, S., Michel, F.C., 2006. Persistence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* and Other Zoonotic Pathogens during Simulated Composting, Manure Packing, and Liquid Storage of Dairy Manure. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 565–574. doi: 10.1128/AEM.72.1.565
- Haack, S.K., Duris, J.W., Kolpin, D.W., Fogarty, L.R., Johnson, H.E., Gibson, K.E., Focazio, M., Schwab, K.J., Hubbard, L.E., Foreman, T., 2015. Genes Indicative of Zoonotic and Swine Pathogens Are Persistent in Stream Water and Sediment following a Swine Manure Spill. *Appl. Environ. Microbiol.* 81. doi: 10.1128/AEM.04195-14
- Hagenaars, T., Hoeksma, P., De Roda Husman, A.M., Swart, A., Wouters, I.M., 2017. *Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (aanvullende studies); Analyse van gezondheidseffecten, risicofactoren en uitstoot van bio-aerosolen [Dutch]*. Bilthoven, The Netherlands.
- Hagens, W.I., Rutjes, S.A., Rutgers, M., Janssen, P.J.C., Fisher, P.H., Dusseldorp, A., 2011. *Gezondheidsaspecten van het wonen nabij composteerbedrijven; Een literatuurstudie [Dutch]*. Bilthoven, The Netherlands.
- Hamelers, H.V.M., 2001. *A mathematical model for composting kinetics*. Wageningen UR.
- Heezen, P.A.M., Schalk, J.A.C., Posthuma, L., Wintersen, A.M., 2014. *Feitenrelaas rond de aspecten "Gezondheid en Veiligheid" van biovergisting [Dutch]*. Bilthoven, The Netherlands.
- Hodgson, C.J., Oliver, D.M., Fish, R.D., Bulmer, N.M., Heathwaite, A.L., Winter, M., Chadwick, D.R., 2016. Seasonal persistence of faecal indicator organisms in soil following dairy slurry application to land by surface broadcasting and shallow injection. *J. Environ. Manage.* 183, 325–332. doi: 10.1016/j.jenvman.2016.08.047
- Hoeksma, P., Aarnink, A., De Buissonjé, F., Rutjes, S., Blaak, H., 2015. *Effect van processtappen op overleving van micro-organismen bij mestverwerking [Dutch]*. Wageningen, The Netherlands.
- Hussein, H.S., Bollinger, L.M., 2005. Prevalence of Shiga Toxin – Producing *Escherichia coli* in Beef Cattle. *J. Food Prot.* 68, 2224–2241.
- Hutchison, M.L., Walters, L.D., Avery, S.M., Synge, B.A., Moore, A., 2004. Levels of zoonotic agents in British livestock manures. *Lett. Appl. Microbiol.* 39, 207–214. doi: 10.1111/j.1472-765X.2004.01564.x
- Ihekweazu, C., Barlow, M., Roberts, S., Christensen, H., Guttridge, B., Lewis, D., Paynter, S., 2004. Outbreak of *E. coli* O157 infection in the south west of the UK: risks from streams crossing seaside beaches. *Eurosurveillance* 11, 128–130.
- Jahne, M.A., Rogers, S.W., Holsen, T.M., Grimberg, S.J., 2015a. Quantitative microbial risk assessment of bioaerosols from a manure application site. *Aerobiologia (Bologna)*. 31, 73–87. doi: 10.1007/s10453-014-9348-0
- Jahne, M.A., Rogers, S.W., Holsen, T.M., Grimberg, S.J., Ramler, I.P., 2015b. *Emission and Dispersion of Bioaerosols from Dairy Manure*

- Application Sites: Human Health Risk Assessment. *Environ. Sci. Technol.* 49, 9842–9849. doi:10.1021/acs.est.5b01981
- Jahne, M.A., Rogers, S.W., Holsen, T.M., Grimberg, S.J., Ramler, I.P., Kim, S., 2016. Bioaerosol Deposition to Food Crops near Manure Application: Quantitative Microbial Risk Assessment. *J. Environ. Qual.* 674, 666–674. doi:10.2134/jeq2015.04.0187
- Johnson, J.Y.M., Thomas, J.E., Graham, T.A., Townshend, I., Byrne, J., Selinger, L.B., Gannon, V.P.J., 2003. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* spp. in surface waters of southern Alberta and its relation to manure sources. *Can. J. Microbiol.* 335, 326–335. doi:10.1139/W03-046
- Jokinen, C., Edge, T.A., Ho, S., Koning, W., Laing, C., Mauro, W., Medeiros, D., Miller, J., Robertson, W., Taboada, E., Thomas, J.E., Topp, E., Ziebell, K., Gannon, V.P.J., 2010a. Molecular subtypes of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica*, and *Escherichia coli* O157:H7 isolated from faecal and surface water samples in the Oldman River watershed, Alberta, Canada. *Water Res.* 5. doi:10.1016/j.watres.2010.10.001
- Jokinen, C.C., Schreier, H., Mauro, W., Taboada, E., Isaac-arenton, J.L., Topp, E., Edge, T., Thomas, J.E., Gannon, V.P.J., Creek, D., 2010b. The occurrence and sources of *Campylobacter* spp., *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157:H7 in the Salmon River, British Columbia, Canada. *J. Water Health* 08.2, 374–386. doi:10.2166/wh.2009.076
- Jones, D.L., 1999. Potential health risks associated with the persistence of *Escherichia coli* O157 in agricultural environments. *Soil use Manag.* 15, 76–83.
- Kearney, T.E., Larkin, M.J., Frost, J.P., Levet, P.N., 1993. Survival of pathogenic bacteria during mesophilic anaerobic digestion of animal waste. *J. Appl. Bacteriol.* 75, 215–219.
- Kim, J., Sheperd, M.W., Jiang, X., 2009. Evaluating the Effect of Environmental Factors on Pathogen Regrowth in Compost Extract. *Environ. Microbiol.* 58, 498–508. doi:10.1007/s00248-009-9524-x
- Liu, Z., Carroll, Z.S., Long, S.C., Gunasekaran, S., Runge, T., 2016. Use of cationic polymers to reduce pathogen levels during dairy manure separation. *J. Environ. Manage.* 166, 260–266. doi:10.1016/j.jenvman.2015.10.033
- Liu, Z., Carroll, Z.S., Long, S.C., Roa-espinoza, A., Runge, T., 2017. Centrifuge separation effect on bacterial indicator reduction in dairy manure. *J. Environ. Manage.* 191, 268–274. doi:10.1016/j.jenvman.2017.01.022
- Maassen, K., Heederik, D., IJzermans, J., Hagenaaars, T., Van der Hoek, W., 2016. *Veehouderij en gezondheid omwonenden* [Dutch]. Bilthoven, The Netherlands.
- McCarthy, G., Lawlor, P.G., Carney, K.N., Zhan, X., Gutierrez, M., Gardiner, G.E., 2015. An investigation into the removal of *Salmonella* and enteric indicator bacteria from the separated liquid fraction of raw or anaerobically digested pig manure using novel on-farm woodchip biofilters. *Sci. Total Environ.* 514, 140–146. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.12.036
- McCarthy, G., Lawlor, P.G., Coffey, L., Nolan, T., Gutierrez, M., Gardiner, G.E., 2011. An assessment of pathogen removal during composting of the separated solid fraction of pig manure. *Bioresour. Technol.* 102, 9059–9067.

- doi:10.1016/j.biortech.2011.07.021
- McCarthy, G., Lawlor, P.G., Gutierrez, M., Gardiner, G.E., 2013. Assessing the biosafety risks of pig manure for use as a feedstock for composting. *Sci. Total Environ.* 463–464, 712–719. doi:10.1016/j.scitotenv.2013.06.069
- Money, P., Kelly, A.F., Gould, S.W.J., Threlfall, E.J., Fielder, M.D., 2010. Cattle, weather and water: mapping *Escherichia coli* O157:H7 infections in humans in England. *Environ. Microbiol.* 12, 2633–2644. doi:10.1111/j.1462-2920.2010.02293.x
- Nicholson, F.A., Groves, S.J., Chambers, B.J., 2005. Pathogen survival during livestock manure storage and following land application. *Bioresour. Technol.* 96, 135–143. doi:10.1016/j.biortech.2004.02.030
- Njage, P.M.K., Buys, E.M., 2014. Pathogenic and commensal *Escherichia coli* from irrigation water show potential in transmission of extended spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamases determinants to isolates from lettuce. *Microb. Biotechnol.* 8, 462–473. doi:10.1111/1751-7915.12234
- Oenema, O., Velthof, G.L., 2015. Nut en risico's van covergisting; syntheserapport [Dutch]. Wageningen, The Netherlands.
- Pandey, P.K., Biswas, S., Vadella, V.K., Soupir, M.L., 2015. *Escherichia coli* persistence kinetics in dairy manure at moderate, mesophilic, and thermophilic temperatures under aerobic and anaerobic environments. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 38, 457–467. doi:10.1007/s00449-014-1285-3
- Pandey, P.K., Cao, W., Wang, Y., Vaddella, V., Castillo, A.R., Souza, A., Silva, N., 2016. Simulating the effects of mesophilic anaerobic and aerobic digestions, lagoon system, and composting on pathogen inactivation. *Ecol. Eng.* 97, 633–641. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.10.047
- Pandey, P.K., Soupir, M.L., 2011. *Escherichia coli* inactivation kinetics in anaerobic digestion of dairy manure under moderate, mesophilic and thermophilic temperatures. *AMB Express* 1, 1–18. doi:10.1186/2191-0855-1-18
- Renter, D.G., Morris, J.G., Sargeant, J.A.N.M., Hungerford, L.L., Berezowski, J., Ngo, T., Williams, K., Acheson, D.W.K., 2005. Prevalence, Risk Factors, O Serogroups, and Virulence Profiles of Shiga Toxin–Producing Bacteria from Cattle Production Environments. *J. Food Prot.* 68, 1556–1565.
- Rhoades, J.R., Duffy, G., Koutsoumanis, K., 2009. Prevalence and concentration of verocytotoxigenic *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in the beef production chain: A review. *Food Microbiol.* 26, 357–376. doi:10.1016/j.fm.2008.10.012
- Riaño, B., García-González, M.C., 2014. On-farm treatment of swine manure based on solid-liquid separation and biological nitrification-denitrification of the liquid fraction. *J. Environ. Manage.* 132, 87–93. doi:10.1016/j.jenvman.2013.10.014
- Rutjes, S.A., Lodder, W.J., Bouwknegt, M., De Roda Husman, A.M., 2007. Increased hepatitis E virus prevalence on Dutch pig farms from 33 to 55% by using appropriate internal quality controls for RT-PCR. *J. Virol. Methods* 143.
- RVO, 2017. Dierlijke Mest Exporteren [Dutch] [WWW Document]. URL <https://mijn.rvo.nl/dierlijke-mest-exporteren> (accessed 5.22.17).

- Sahlström, L., Bagge, E., Emmoth, E., Holmqvist, A., Danielsson-tham, M., Albiñ, A., 2008. A laboratory study of survival of selected microorganisms after heat treatment of biowaste used in biogas plants. *Bioresour. Technol.* 99, 7859–7865. doi:10.1016/j.biortech.2007.09.071
- Schets, F.M., During, M., Italiaander, R., Heijnen, L., Rutjes, S.A., Van der Zwaluw, W.K., De Roda Husman, A.M., 2005. *Escherichia coli* O157:H7 in drinking water from private water supplies in the Netherlands. *Water Res.* 39, 4485–4493. doi:10.1016/j.watres.2005.08.025
- Schijven, J., Bouwknegt, M., De Roda Husman, A.M., Rutjes, S., Sudre, B., Suk, J.E., Semenza, J.C., 2013. A Decision Support Tool to Compare Waterborne and Foodborne Infection and/or Illness Risks Associated with Climate Change. *Risk Anal.* 33, 2154–2167. doi:10.1111/risa.12077
- Schijven, J., Derx, J., De Roda Husman, A.M., Blaschke, A.P., Farnleitner, A.H., 2015a. QMRACatch: Microbial Quality Simulation of Water Resources including Infection Risk Assessment. *J. Environ. Qual.* 44, 1491–1502. doi:10.2134/jeq2015.01.0048
- Schijven, J.F., Blaak, H., Schets, F.M., De Roda Husman, A.M., 2015b. Fate of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Faecal Sources in Surface Water and Probability of Human Exposure through Swimming. *Environ. Sci. Technol.* 49, 11825–11833. doi:10.1021/acs.est.5b01888
- Schijven, J.F., De Bruin, H.A.M., Engels, G.B., Leenen, E.J.T.M., 1999. Emissie van *Cryptosporidium* en *Giardia* door landbouwhuisdieren [Dutch] (No. 289202 023). Bilthoven, The Netherlands.
- Schijven, J.F., Teunis, P.F.M., Rutjes, S.A., Bouwknegt, M., De Roda Husman, A.M., 2011. QMRASpot: A tool for Quantitative Microbial Risk Assessment from surface water to potable water. *Water Res.* 45, 5564–5576. doi:10.1016/j.watres.2011.08.024
- Semenov, A. V., Van Bruggen, A.H.C., Van Overbeek, L., Termorshuizen, A.J., Semenov, A.M., 2007. Influence of temperature fluctuations on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in cow manure. *FEMS Mi* 60, 419–428. doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00306.x
- Semenov, A. V., Van Overbeek, L., Termorshuizen, A.J., Van Bruggen, A.H.C., 2011. Influence of aerobic and anaerobic conditions on survival of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Luria-Bertani broth, farm-yard manure and slurry. *J. Environ. Manage.* 92, 780–787. doi:10.1016/j.jenvman.2010.10.031
- Soller, J.A., Schoen, M.E., Bartrand, T., Ravenscroft, J.E., Ashbolt, N.J., 2010. Estimated human health risks from exposure to recreational waters impacted by human and non-human sources of faecal. *Water Res.* 44, 4674–4691. doi:10.1016/j.watres.2010.06.049
- Sterk, A., Schijven, J., De Roda Husman, A.M., De Nijs, T., 2016. Effect of climate change on runoff of *Campylobacter* and *Cryptosporidium* from land to surface water. *Water Res.* 95, 90–102. doi:10.1016/j.watres.2016.03.005
- Topp, E., Scott, A., Lapen, D.R., Lyautey, E., Duriez, P., 2009. Livestock waste treatment systems for reducing environmental exposure to hazardous enteric pathogens: Some considerations. *Bioresour. Technol.* 100, 5395–5398. doi:10.1016/j.biortech.2008.11.001



- Turner, C., 2002. The thermal inactivation of *E. coli* in straw and pig manure. *Bioresour. Technol.* 84, 57–61.
- Van der Giessen, J., Van de Giessen, A., Braks, M., 2010. Emerging zoonoses: Early warning and surveillance in the Netherlands (No. 3302144002). National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands.
- Van Duynhoven, Y.T.H.P., De Jager, C.M., Heuvelink, A.E., Van der Zwaluw, W.K., Maas, H.M.E., Van Pelt, W., Wannet, W.J.B., 2002. Enhanced Laboratory-Based Surveillance of Shiga-Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 in The Netherlands. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 513–522. doi:10.1007/s10096-002-0756-7
- Van Leuken, J., Hoeksma, P., 2016. Beantwoording Gezondheidsvragen Provincie Noord-Brabant, Mestverwerker OOC / MACE te Oss, versie 3. [Dutch] Bilthoven, The Netherlands.
- Van Leuken, J., Van de Kassteede, J., Sauter, F.J., Van der Hoek, W., Heederik, D., Havelaar, A., Swart, A., 2015. Improved correlation of human Q fever incidence to modelled *C. burnetii* concentrations by means of an atmospheric dispersion model. *Int. J. Health Geogr.* 14. doi:10.1186/s12942-015-0003-y
- Van Leuken, J.P.G., Swart, A.N., Havelaar, A.H., Van Pul, A., Van der Hoek, W., Heederik, D., 2015. Atmospheric dispersion modelling of bioaerosols that are pathogenic to humans and livestock – A review to inform risk assessment studies. *Microb. Risk Anal.* 0, 1–21. doi:10.1016/j.mran.2015.07.002
- Vanotti, M.B., Millner, P.D., Hunt, P.G., Ellison, A.Q., 2005. Removal of pathogen and indicator microorganisms from liquid swine manure in multi-step biological and chemical treatment. *Bioresour. Technol.* 96, 209–214. doi:10.1016/j.biortech.2004.05.010
- Venglovsky, J., Sasakova, N., Placha, I., 2009. Pathogens and antibiotic residues in animal manures and hygienic and ecological risks related to subsequent land application. *Bioresour. Technol.* 100, 5386–5391. doi:10.1016/j.biortech.2009.03.068
- Viancelli, A., Kunz, A., Fongaro, G., Kich, J.D., Barardi, C.R.M., Suzin, L., 2015. Pathogen Inactivation and the Chemical Removal of Phosphorus from Swine Wastewater. *Water Air Soil Pollut.* 226. doi:10.1007/s11270-015-2476-5
- Vinneras, B., 2007. Comparison of composting, storage and urea treatment for sanitising of faecal matter and manure. *Bioresour. Technol.* 98, 3317–3321. doi:10.1016/j.biortech.2006.07.011
- Von Salviati, C., Laube, H., Guerra, B., Roesler, U., Friese, A., 2015. Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Vet. Microbiol.* 175, 77–84. doi:10.1016/j.vetmic.2014.10.010
- Watcharasukarn, M., Kaparaju, P., Steyer, J.P., Krogfelt, K.A., Angelidaki, I., 2009. Screening *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as Indicator Organisms in Evaluating Pathogen-Reducing Capacity in Biogas Plants. *Environ. Microbiol.* 58, 221–230. doi:10.1007/s00248-009-9497-9



## Bijlage 1 Systematische zoekterm (technische versie)

Totaal aantal publicaties Scopus/Embase	5.427
Totaal aantal dubbele publicaties:	- 1.324
Totaal aantal unieke studies:	<b>4.103</b>
Waarvan sec gericht op pluimvee:	- 325
Waarvan niet gericht op pathogene <i>E. coli</i> of MRSA:	- 2.588
Totaal aantal geïncludeerde publicaties:	<b>1.190</b>

## Zoekterm:

Stap	Query	Embase	Scopus
1	TITLE(cattle OR cow OR cows OR bovine OR calves OR beef OR pig* OR pork OR swine OR hog OR hogs OR goat* OR livestock* OR dairy OR (animal-husbandry) OR (domestic-animals) OR (farm-animals) OR poultry OR chicken* OR broiler* OR turkeys OR ducks OR geese) OR KEY(cattle OR cow OR cows OR bovine OR calves OR beef OR pig* OR pork OR swine OR hog OR hogs OR goat* OR livestock* OR dairy OR (animal-husbandry) OR (domestic-animals) OR (farm-animals) OR poultry OR chicken* OR broiler* OR turkeys OR ducks OR geese OR goose)		
2	TITLE-ABS-KEY(manure* OR slurry OR sludge OR (organic-fertilizer*) OR feces OR fecal OR (animal-waste) OR (farm-waste) OR (dairy-waste) OR (agrofood-waste))		
3	#1 AND #2	27.159	29.121
4	TITLE-ABS-KEY((cattle OR cow OR cows OR pig OR pigs OR swine OR goat* OR dairy OR livestock OR poultry OR chicken* OR broiler*) W/5 (manure OR waste* OR slurry OR feces OR fecal))		
5	#3 OR #4	30.259	39.167
6	TITLE-ABS-KEY(mrsa OR "s.-aureus" OR (staphylococcus-aureus)) OR KEY(methicillin-resistant-staphylococcus-aureus)		
7	TITLE((escherichia-coli) OR ("e.-coli") OR stec of ehec OR o157* OR shiga*) OR (TITLE(esbl*) AND (TITLE(col) OR KEY(col))) OR KEY((escherichia-coli) OR (escherichia-coli-o157) OR (pathogenic-escherichia-coli) OR (shiga-toxicogenic-escherichia-coli)) OR KEY(("e.-coli") OR stec of ehec OR o157* OR shiga*) OR (KEY(esbl*) AND (TITLE(col) OR KEY(col)))		
8	TITLE-ABS-KEY(pathogen* OR virulent OR (toxin-producing)) OR (TITLE-ABS-KEY(esbl* OR (extensive-spectrum-beta-lactamase)) AND TITLE-ABS-KEY(col)) OR TITLE-ABS-KEY(o157* or stec or shiga* or esbl* or ehec)		
9	#7 AND #8	58.103	59.347
10	TITLE-ABS-KEY((influenza-A) OR H5N1 OR (avian-influenza) OR toxoplasma OR (japanese-encephalitis-virus) OR campylobacter OR (mycobacterium-bovis) OR (bse AND prion*) OR (coxiella-burnetii) OR (anaplasma-phagocytophila) OR (streptococcus-suis) OR (leptospira-interrogans) OR (west-nile-virus) OR (crimean-congo-hemorrhagic-fever-virus) OR (dobrava-belgrade-virus) OR (rabies-virus) OR (yersinia-pestis) OR (rift-valley-fever-virus) OR (capnocytophaga-canimorsus) OR (francisella-tularensis) OR (eastern-equine-encephalitis-virus) OR (chlamydomphila-pittance) OR (tick-borne-encephalitis-virus) OR (tbe-virus) OR (staphylococcus-		

Stap	Query	Embase	Scopus
	aureus) OR mrsa OR (seoul-virus) OR (bartonella-henselae) OR (european-bat-lyssa-virus) OR (brucella-melitensis) OR (mycobacterium-avium) OR (puumala-virus) OR (california-encephalitis-virus) OR (brucella-suis) OR (hepatitis-E-virus) OR hev OR (saint-louis-encephalitis-virus) OR (salmonella AND (non-typhoidal)) OR (pasteurella-multocida) OR (echinococcus-multilocularis) OR (escherichia-coli) OR (chlamydomphila-abortus) OR (yersinia-enterocolitica) OR trichinella OR (clostridium-botulinum) OR (monkeypox-virus) OR (rickettsia-conorii) OR (lymphocytic-choriomeningitis-virus) OR (western-equine-encephalitis-virus) OR (rickettsia-rickettsii) OR (louping-ill-virus) OR (cryptosporidium-parvum) OR (eyach- virus) OR (cowpox-virus) OR borrelia OR ((cryptococcus-neoformans) AND gattii) OR (ascaris-suum) OR (roci-virus) OR leishmania OR (giardia-lamblia) OR (toxocara-canis) OR (toxocara-cati) OR (cryptococcus-neoformans) OR (ljungan-virus) OR (babesia-divergens) OR (babesia-microti) OR (tahyna-virus) OR (tribec-virus) OR (taenia-solium) OR (baylisascaris-procyonis) OR (rickettsia-helvetica) OR rickettsia OR (clostridium-difficile) OR (venezuelan-equine -encephalitis-virus) OR (colorado-tick-fever-virus) OR (echinococcus -granulosus) OR (anisakis-simplex) OR (orf-virus) OR (erve-virus) OR (taenia-saginata) OR (erysipelothrix-rhusiopathiae) OR (batai-virus) OR (ehrlichia-chaffeensis) OR (fasciola-hepatica) OR (bhanja-virus) OR (sindbis-virus) OR (burkholderia-mallei) OR (dirofilaria-immitis) OR (dirofilaria-repens) OR thogotovirus OR (barma-forest-virus) OR (wesselsbron-virus) OR (ross-river-virus) OR (dhoriv-virus) OR (batken-virus))		
11	#5 AND (#6 OR #9 OR #10)	6.846	3.906
12	TITLE(exposure OR infect* OR risk OR risks OR coloni?ation OR reservoir*) OR KEY(exposure OR infect* OR risk OR risks OR coloni?ation OR reservoir*) OR KEY(infection OR (disease-transmission) OR (disease-carrier))		
13	TITLE(spread* OR dispersion OR dissemination OR emission* OR environment* OR water OR air* OR wind OR soil OR contamination OR pollution) OR KEY(spread* OR dispersion OR dissemination OR emission* OR environment* OR water OR air* OR wind OR soil OR contamination OR pollution)		
14	TITLE-ABS-KEY(prevalence OR occurrence OR persistence OR concentration OR concentrations OR cfu* OR (colony-forming)) OR KEY(prevalence OR occurrence OR persistence OR concentration OR concentrations OR cfu* OR (colony-forming)) OR KEY((bacterial-count) OR (bacterial-count))		
15	TITLE(desinfect* OR disinfect* OR inhibition OR compost* OR biogas OR filtrat* OR osmosis OR treatment OR (manure-management) OR (anaerobic-digestion) OR storage OR thermal OR inactivation OR intervention OR interventions) OR KEY(desinfect* OR disinfect* OR inhibition OR compost* OR biogas OR filtrat* OR osmosis OR treatment OR (manure-management) OR (anaerobic-digestion) OR storage OR thermal OR inactivation OR intervention OR interventions)		
16	#11 AND (#12 OR #13 OR #14 OR #15)	5,52	3.254
17	TITLE-ABS-KEY((soil-microbial) OR (soil-microbiolog*))		

Stap	Query	Embase	Scopus
18	#16 AND NOT #17	5.352	3.085
19	TITLE-ABS-KEY(asia OR africa OR australasia OR australia OR (new-zealand) OR (south-america) OR (latin-america) OR (middle-america) OR (central-america))		
20	#18 AND NOT #19	4.409	2.906
21	TITLE-ABS-KEY((european-population*) OR europ* OR iceland OR norway OR sweden OR finland OR denmark OR (great-britain) OR (united-kingdom) OR england OR scotland OR wales OR ireland OR netherlands OR belgium OR france OR luxemburg OR spain OR portugal OR italy OR switzerland OR austria OR germany)		
22	AFFILCOUNTRY((european-population*) OR europ* OR iceland OR norway OR sweden OR finland OR denmark OR (great-britain) OR (united-kingdom) OR england OR scotland OR wales OR ireland OR netherlands OR belgium OR france OR luxemburg OR spain OR portugal OR italy OR switzerland OR austria OR germany)		
23	TITLE-ABS-KEY(poland OR hungary OR czech OR croatia OR slovakia OR slovenia OR romania OR bulgaria OR lithuania OR latvia OR estonia OR estland OR greece OR turkey OR balkan OR albania OR serbia OR montenegro OR macedonia OR bosnia OR herzegovina OR yugoslavia OR cyprus OR malta)		
24	AFFILCOUNTRY(poland OR hungary OR czech OR croatia OR slovakia OR slovenia OR romania OR bulgaria OR lithuania OR latvia OR estonia OR estland OR greece OR turkey OR balkan OR albania OR serbia OR montenegro OR macedonia OR bosnia OR herzegovina OR yugoslavia OR cyprus OR malta)		
25	TITLE-ABS-KEY(russia OR russian OR ussr OR (soviet-union) OR ukraine OR belarus OR moldova OR armenia OR georgia OR transcaucasian OR (united-states) OR usa OR canada)		
26	AFFILCOUNTRY(russia OR russian OR ussr OR (soviet-union) OR ukraine OR belarus OR moldova OR armenia OR georgia OR transcaucasian OR (united-states) OR usa OR canada)		
27	#21 OR #22 OR #23 OR #24 OR #25 OR #26		
28	TITLE-ABS-KEY((new-south-wales) OR (turkey-meat))		
29	27 AND NOT #28		
30	#20 AND #29	3.588	2.306
31	LANGUAGE(english OR dutch) AND PUBYEAR > 1979		
32	#30 AND #31	3.501	2.171
33	DOCTYPE(ar) OR DOCTYPE(re) OR DOCTYPE(cp)		
34	#32 AND #33	3.396	2.171
35	ORIG-LOAD-DATE AFT <b>20161009</b>		
36	#34 AND NOT #35	3.336	2.129
37	Remove duplicated	3.308	2.129

## Bijlage 2 Prevalentie- en concentratiewaarden

Tabel B2.1 – Prevalentie- en concentratiewaarden in de geselecteerde wetenschappelijke publicaties. Per studie is weergegeven van welk dier de mest afkomstig is, naar welke bacterie is gezocht, het totaal aantal monsters en het totaal aantal positieve monsters (zowel op basis van PCR als kweek). De concentratiewaarden zijn weergegeven als aantal kolonievormende eenheden (kve) per gram mest.

Ref.	Dier	Bacterie	Monsters (n)	PCR Positief		Kweek positief		Concentratie [kve/g]	
				n	%	n	%	Gem.	Max.
Tozzoli et al., 2016	Varken	E. coli	1	1	100.0%				
Stanford et al., 2016	Rund	E. coli O26	1749	1439	82.3%	210	12.0%		
		E. coli O45		1628	93.1%	200	11.4%		
		E. coli O103		1651	94.4%	245	14.0%		
		E. coli O111		143	8.2%	19	1.1%		
		E. coli O121		1156	66.1%	138	7.9%		
		E. coli O145		122	7.0%	40	2.3%		
		E. coli O157		1378	78.8%	183	10.5%		
Ibrahim et al., 2016	Rund	ESBL/AmpC-E. coli	126			53	42.1%		
Gonggrijp et al., 2016	Rund	ESBL/AmpC-E. coli	100	41	41.0%				
Widgren et al., 2015	Rund	E. coli O157	2209	226	10.2%	224	10.1%		
Von Salviati et al., 2015	Varken	E. coli	21	11	52.4%	10	47.6%	6.46E+03	
Jahne et al., 2015z	Rund	E. coli O157	5	0	0.0%				
Haack et al., 2015	Varken	EHEC	3	2	66.7%				
		STEC		3	100.0%				
		ETEC		2	66.7%				
		E. coli O157		2	66.7%				
Dewsbury et al., 2015	Rund	E. coli O26	1152			6	0.5%		
		E. coli O45				0	0.0%		
		E. coli O103				9	0.8%		
		E. coli O111				0	0.0%		
		E. coli O121				0	0.0%		
		E. coli O145				5	0.4%		
		E. coli O157				238	20.7%		
Dahms et al., 2015	Rund	ESBL-E. coli	11			6	54.5%		
	Varken		17			15	88.2%		

Ref.	Dier	Bacterie	Monsters (n)	PCR Positief		Kweek positief		Concentratie [kve/g]	
				n	%	n	%	Gem.	Max.
Hering et al., 2014	Varken	Cefotaxime resistent E.coli	384			128	33.3%		
Widgren et al., 2013	Rund	E. coli O157	31	19	61.3%				
Pinaka et al., 2013	Rund	E. coli O157	140	0	0.0%				
	Varken		106	0	0.0%				
	Rund	E. coli non-O157	140	2	1.4%				
	Varken		106	0	0.0%				
Monaghan et al., 2013	Rund	E. coli	1200	47	3.9%				
		E. coli O2				29	2.4%		
		E. coli O15				7	0.6%		
		E. coli O25				1	0.1%		
		E. coli O26				3	0.3%		
		E. coli O98				6	0.5%		
		E. coli O103				1	0.1%		
		E. coli O108				1	0.1%		
		E. coli O145				3	0.3%		
		E. coli O-non typable				37	3.1%		
Friese et al., 2013	Rund	ESBL/AmpC-E. coli	10			6	60.0%		
	Varken		16			7	43.8%		
	Varken		16			9	56.3%		
	Rund	MRSA	1			0	0.0%		
	Varken		15			11	73.3%		
	Varken		12			4	33.3%		
Hartmann et al., 2012	Rund	ESBL-E. coli	2	2	100.0%				
Ennis et al., 2012	Rund	E. coli O-	650	24	3.7%				
		E. coli O2		7	1.1%				
		E. coli O3		1	0.2%				
		E. coli O26		2	0.3%				
		E. coli O33		1	0.2%				
		E. coli O69		1	0.2%				
		E. coli O76		1	0.2%				
		E. coli O88		1	0.2%				
		E. coli O113		4	0.6%				
Ennis et al., 2012 -	Rund	E. coli O118		<b>1</b>	<b>0.2%</b>				

Ref.	Dier	Bacterie	Monsters (n)	PCR Positief		Kweek positief		Concentratie [kve/g]	
				n	%	n	%	Gem.	Max.
vervolg		E. coli O136		1	0.2%				
		E. coli O150		1	0.2%				
		E. coli O153		2	0.3%				
		E. coli O157		27	4.2%				
		E. coli O171		4	0.6%				
		E. coli OR		1	0.2%				
		E. coli OX8		5	0.8%				
Bolton et al., 2012	Gemengd	E. coli O157	98	2	2.0%				
Williams et al., 2011	Rund	E. coli O157	9000	86	1.0%				
Weese et al., 2011	Varken	MRSA	460	21	4.6%				
Snow et al., 2011	Rund	ESBL-E. coli	101	6	5.9%				
Kilonzo et al., 2011	Rund	E. coli O157	1400			109	7.8%		
C. Jokinen et al., 2010	Rund	E. coli O157	199	13	6.5%				
Freidl et al., 2011	Rund	VTEC	217	147	67.7%				
		EPEC		19	8.8%				
		E. coli O157		20	9.2%				
Rao et al., 2010	Rund	E. coli	2100	1861	88.6%				
		E. coli O157		148	7.0%				
Kondo et al., 2010	Rund	E. coli O157	456			48	10.5%		
Farzan et al., 2010	Varken	E. coli O157	359	12	3.3%				
Aslam et al., 2010	Rund	E. coli O157	240	205	85.4%				
Stephens et al., 2009	Rund	E. coli O157	92	19	20.7%				
Nizza et al., 2010	Rund	E. coli O157	169			40	23.7%		
		E. coli O26				4	2.4%		
		E. coli O111				4	2.4%		
		E. coli O128				12	7.1%		
		E. coli O103				0	0.0%		
Jacob et al., 2009	Rund	E. coli O157	280	44	15.7%				
Ellis-Iversen et al., 2009	Rund	E. coli O157	3152	753	23.9%				
Lanz Uhde et al., 2008	Rund	E. coli K99	147	14	9.5%				
Renter et al., 2008	Rund	E. coli O157	88	78	88.6%				
Oot et al., 2007	Rund	E. coli O157	10			7	70.0%		
Franz et al., 2007	Rund	E. coli O157	25			13	52.0%		
Feder et al., 2007	Varken	E. coli O157	2526	106	4.2%				
Sanderson et al., 2006	Rund	E. coli O157	75			1	1.3%		



Ref.	Dier	Bacterie	Monsters (n)	PCR Positief		Kweek positief		Concentratie [kve/g]	
				n	%	n	%	Gem.	Max.
Cho et al., 2006	Rund	E. coli O157	132			6	4.5%		
Callaway et al., 2006	Rund	E. coli O157	240			28	11.7%		
Stanford et al., 2005	Rund	E. coli O157	443			61	13.8%		
Schouten et al., 2005	Rund	E. coli O157	462			42	9.1%		
	Varken		229			1	0.4%		
Renter et al., 2005	Rund	STEC	2791			843	30.2%		
Dewell et al., 2005	Rund	E. coli O157	450			111	24.7%		
Schouten et al., 2004	Rund	E. coli O157	678			49	7.2%		
Renter et al., 2004	Rund	E. coli O157	25	2	8.0%				
Lejeune et al., 2004	Rund	E. coli O157	4790			636	13.3%		
Hutchison et al., 2004	Rund	E. coli O157	429			39	9.1%	8.60E+03	7.50E+04
	Varken		58			9	15.5%	4.50E+03	1.80E+04
Fratamico et al., 2004	Varken	STEC	687	484	70.5%				
Berg et al., 2004	Rund	E. coli O157	8682			161	1.9%	1.35E+03	1.45E+04
Vernozy-Rozand et al., 2002	Rund	VTEC	123	12	9.8%				
	Varken		182	19	10.4%				
Van Donkersgoed et al., 2001	Rund	E. coli O157	240			2	0.8%		
Galland et al., 2001	Rund	E. coli O157	17050			44	0.3%		
Cizek et al., 1999	Rund	E. coli O157	12			6	50.0%		
Hancock et al., 1998	Rund	E. coli O157	2143			63	2.9%		
Hancock et al., 1994	Rund	E. coli O157	600			2	0.3%		
Wells et al., 1991	Rund	E. coli O157	1266			18	1.4%		

**RIVM**

*De zorg voor morgen begint vandaag*