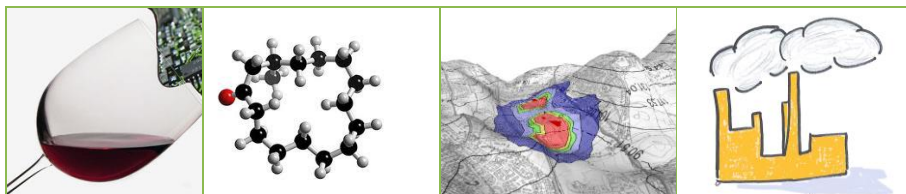


Literatuurstudie omtrent de relatie tussen varkenshouderij en gezondheid van omwonenden

Bets Goetschalckx, Toon Van Elst, Eva Brusselman, Lieve Herman, Els Van Pamel, Els Van Coillie



titel: Literatuurstudie omtrent relatie tussen varkenshouderij en gezondheid van omwonenden

opdrachtgever: Producenten Organisatie Varkenshouderij
Postbus 240
8000 AE Zwolle
The Netherlands

contactpersoon: Eric Holleman, dagelijks bestuurslid POV

opdrachtnemer: OLFASCAN nv
Industrieweg 114H
9032 Wondelgem
tel +32 9 265 74 00 - fax +32 9 265 74 05
info@olfascan.com - www.olfascan.com

contactpersoon/auteur(s): Bets Goetschalckx
e-mail: bets.goetschalckx@olfascan.com

goedgekeurd: voor OLFASCAN nv door



ir. Toon Van Elst*

* voor Castor & Co bvba

copyright: © 2018, OLFASCAN nv

Reproductie van het volledige rapport is toegestaan. Gedeelten van het rapport mogen slechts worden gereproduceerd na verkregen schriftelijke toestemming van OLFASCAN nv.

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave	2
1 Samenvatting	3
2 Inleiding	4
3 Ammoniak	5
3.1 Wat is ammoniak	5
3.2 Ammoniakemissies in Nederland	5
3.3 Gezondheidseffecten van ammoniak	8
3.4 Wettelijk toetsingskader ammoniak	9
4 Fijnstof	11
4.1 Wat is fijnstof?	11
4.2 Fijnstof in Nederland	11
4.3 Gezondheidseffecten fijnstof	13
4.4 Wettelijk toetsingskader fijnstof	15
5 Endotoxinen	17
5.1 Algemeen	17
5.1.1 Aanleiding	17
5.1.2 Wat zijn endotoxinen	17
5.1.3 Meetmethodes voor endotoxinen in de lucht	18
5.1.4 Gezondheidseffecten endotoxinen	22
5.1.5 Grenswaarden	23
5.2 Endotoxineblootstelling in relatie tot de varkenshouderijen	24
5.2.1 Bronnen van endotoxinen in varkenshouderijen	24
5.2.2 Verspreiding	24
5.2.3 Concentraties	25
5.2.4 Nederlands Onderzoek: Veehouderij en gezondheid omwonenden (VGO-studie)	30
5.2.5 Factoren die de endotoxineconcentratie beïnvloeden	30
5.2.6 Vergelijking varkenshouderijen met andere veehouderijen en industrieën	31
5.2.7 Mogelijke gezondheidseffecten van endotoxineblootstelling in relatie tot varkenshouderij	32
5.3 Advieswaarde en toetsingskader endotoxinen	35
5.3.1 Advieswaarde endotoxine van 90 EU/m ³ en 30 EU/m ³	35
5.3.2 Toetsingskader en verspreidingsmodel	37
6 Besluit en aanbevelingen	39
7 Referenties	41

1 Samenvatting

De laatste jaren is de bezorgdheid omtrent risico's voor de gezondheid van omwonenden van veeteelt bedrijven sterk toegenomen. Er werden, vooral in Nederland, verschillende rapporten gepubliceerd. De bestaande onderzoeken resulteerden in tegenstrijdige conclusies, waardoor er heden geen consensus bestaat over de relatie tussen veehouderij en gezondheid. Om een gesprek in verband met deze problematiek te kunnen aangaan, wensten de Producenten Organisatie Varkenshouderij (POV) dat er een objectieve literatuurstudie werd uitgevoerd die een samenvatting van de huidige kennis omtrent dit onderwerp weergeeft. In deze literatuurstudie worden de emissies en mogelijke gezondheidseffecten van ammoniak, fijnstof en endotoxinen afkomstig van varkens- en andere veehouderijen besproken.

De landbouwsector is de grootste emissiebron van ammoniak in de lucht in Nederland. Binnen de veehouderij vormt rundvee de belangrijkste ammoniakemissiebron met 55% van de totale ammoniakemissie van de landbouwsector. Voor de varkenshouderij bedraagt dit 18%. Door het emissiearm aanwenden van varkensmest, de toepassing van emissiearme stallen en een toename in het gebruik van luchtwassers zijn de ammoniakemissies tussen 1990 en 2015 in de varkensveehouderij met bijna 80% gedaald. Op basis van de vergelijking tussen ammoniakconcentratie in de lucht en concentraties die bij chronische blootstelling tot negatieve effecten kunnen leiden lijkt een rechtstreeks effect van ammoniakconcentraties in de buurt van veeteeltbedrijven op omwonenden niet aan de orde. Deze conclusie is echter enkel geldig indien er geen interacties optreden met andere vervuilende verbindingen. Het is voornamelijk onduidelijk of het fenomeen van interactie kan optreden bij omwonenden van veehouderijen.

Ammoniak kan via een tussenstap schade aan de gezondheid toebrengen. Ammoniak kan in de lucht reageren met andere componenten waardoor secundaire fijnstofdeeltjes ontstaan. De vorming van deze deeltjes heeft tijd nodig. Hierdoor worden er geen lokale concentratieverschillen in secundair fijnstof nabij bronnen van ammoniak gevonden. De problematiek van de vorming van secundair fijnstof stelt zich daarom niet op het vlak van omwonenden van stallen, maar er is een algemeen probleem voor de volksgezondheid.

Fijnstof wordt opgedeeld in verschillende categorieën (PM_{0,1}; PM_{2,5}; PM₁₀; > PM₁₀). Algemeen geldt hoe kleiner de fijnstofdeeltjes, hoe dieper het via de luchtwegen in het menselijk lichaam terecht kan komen. Het verkeer en vervoer vormen de grootste PM₁₀ bron (36%) in Nederland, de landbouwsector is verantwoordelijk voor 20% van de primair fijnstof uitstoot. De varkenshouderijen realiseerden tussen 1995 en 2018 een daling van 38%, voornamelijk te wijten aan het gebruik van luchtwassers. In tegenstelling tot ammoniak zijn er in het geval van primair fijnstof wel verschillende andere bronnen naast landbouw die bijdragen aan de primaire fijnstofemissies. Het aandeel van lokale landbouwbedrijven aan de concentratie van primair fijnstof in hun omgeving zal dan ook een stuk lager zijn dan deze aan ammoniak.

Endotoxinen maken deel uit van het buitenste membraan van Gramnegatieve bacteriën en komen vrij bij het afsterven van deze organismen. Ze kunnen gebonden zijn aan stofdeeltjes of aanwezig zijn in waterdruppeltjes, waardoor ze zich in de omgeving kunnen verspreiden. Naargelang de manier waarop het menselijk lichaam in contact komt met endotoxine, kunnen verschillende effecten optreden. Blootstelling aan endotoxinen in de veehouderijen gebeurt hoofdzakelijk via inademing, waardoor deze in de luchtwegen terecht komen. In deze literatuurstudie wordt de huidige kennis omtrent endotoxinen weergegeven. Algemeen blijkt dat er op vele vlakken nood is aan verder onderzoek. Hierbij hoort onderzoek naar het causaal verband tussen endotoxineconcentraties rondom stallen, al dan niet gelinkt aan bepaalde stoffracties en hun zuiverheid, en het effect op de gezondheid van de mens. Verder onderzoek is noodzakelijk om richting te geven aan de vaststelling van een veiligheidsnorm voor endotoxineconcentraties, specifiek gelinkt aan de betrokken diercategorie, en de wijze waarop deze zou kunnen toegepast worden.

2 Inleiding

De laatste jaren is de bezorgdheid omtrent risico's voor de gezondheid van omwonenden van veeteeltbedrijven sterk toegenomen. Er werden, vooral in Nederland, verschillende rapporten gepubliceerd waarbij o.a. volgende onderzoeksvragen aan de basis lagen:

- Zijn er gezondheidsrisico's voor omwonenden van veeteeltbedrijven? Zo ja, is er een verschil tussen diersoorten?
- Welke emissies liggen aan de basis van potentiële gezondheidsrisico's? (vb. endotoxinen, MRSA, fijnstof, ...)
- Dekken de huidige beoordelingskaders voor geur, ammoniak en fijnstof bij de vergunningsaanvraag ook de gezondheidsrisico's voor omwonenden? Zo nee, hoe moet een bijkomend beoordelingskader er dan uit zien?

De bestaande onderzoeken resulteerden met regelmaat in tegenstrijdige conclusies, waardoor er heden geen consensus bestaat over de relatie tussen veehouderij en gezondheid.

In 2016 werd het onderzoek 'Veehouderij en Gezondheid Omwonenden' gepubliceerd (Maassen et al., 2016). Het rapport zorgde voor veel opschudding in de media en politiek. Om een gesprek in verband met deze problematiek te kunnen aangaan, wensten de Producenten Organisatie Varkenshouderij (POV) een onafhankelijk studiebureau aan te stellen om een kwalitatief en objectief onderzoek uit te voeren inzake de gezondheidsrisico's voor omwonenden van varkenshouderijen. Dit onderzoek werd uitgevoerd door OLFASCAN nv met het Instituut voor Landbouw-, Visserij- en Voedingsonderzoek (ILVO) in onderaanneming. Er werd nagegaan welke emissies kunnen voortkomen uit varkenshouderijen. Vervolgens is op basis van wetenschappelijke publicaties nagegaan wat de mogelijke effecten naar gezondheid van omwonenden kunnen zijn.

In hoofdstuk 2 en 3 van onderhavig rapport worden de mogelijke risico's geanalyseerd die verbonden zijn aan de gereguleerde emissies zoals ammoniak en fijnstof, respectievelijk. Daarnaast worden ook de respectievelijke wettelijke toetsingskaders beschreven.

Er bestaat nog veel onduidelijkheid omtrent de blootstelling aan endotoxinen en de effecten hiervan. Om deze reden wordt in hoofdstuk 4 van de literatuurstudie een samenvatting weergegeven van de huidige kennis over endotoxinen. Eerst wordt beschreven wat endotoxinen zijn, hoe de endotoxineconcentratie kan worden bepaald en wat de gezondheidseffecten voor de bevolking kunnen zijn. Vervolgens wordt er specifiek gekeken naar de endotoxineblootstelling afkomstig van varkenshouderijen. De bronnen en verspreiding van endotoxinen in de varkenshouderij worden hier aangehaald. Verder wordt een overzicht gegeven van de endotoxineconcentraties in stallen en in de omgeving van varkenshouderijen en factoren die hier een invloed op kunnen hebben. Op basis van de endotoxineconcentraties waaraan varkenshouders en omwonenden worden blootgesteld, wordt ingeschat wat de mogelijke gezondheidseffecten hiervan kunnen zijn. Vervolgens wordt de advieswaarde voor de endotoxineblootstelling toegelicht. Tevens worden ook de ontwikkeling en de knelpunten van het endotoxinetoetsingskader besproken.

In hoofdstuk 5 worden de belangrijkste conclusies uit dit onderzoek opgelijst en aanbevelingen geformuleerd voor verder onderzoek.

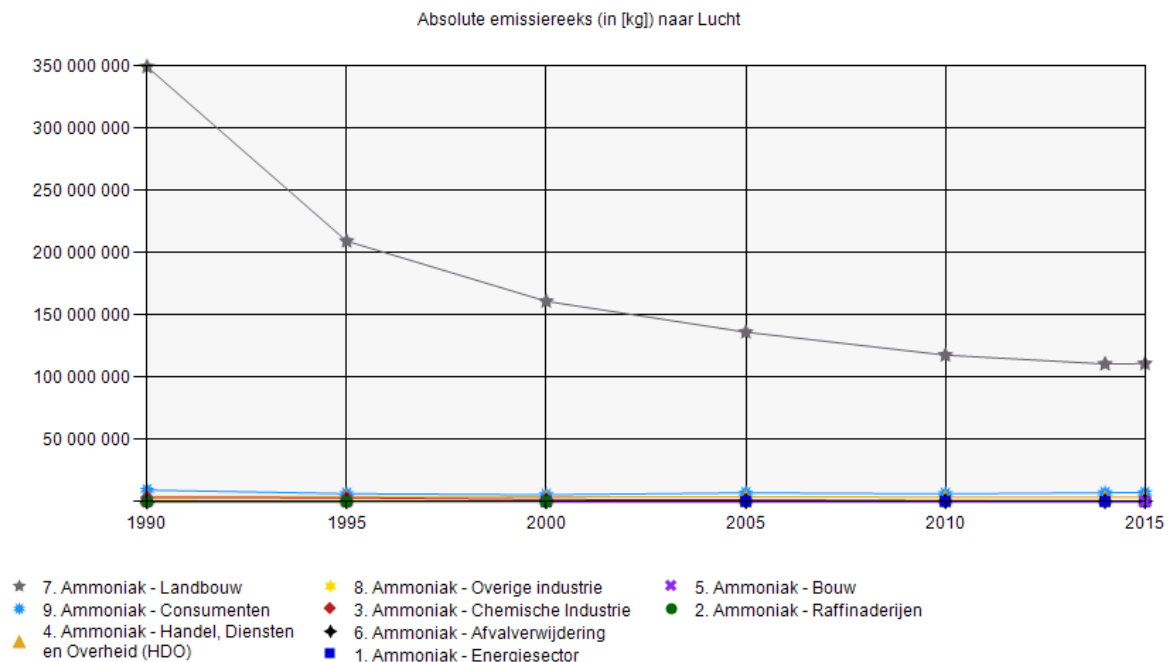
3 Ammoniak

3.1 Wat is ammoniak

Ammoniak (NH_3) is een verbinding van waterstof en stikstof. Ammoniak is aanwezig in mest als afbraakproduct van de vertering van eiwit. Ammoniak is een basische verbinding. Nadat het vanuit de lucht is afgezet op de bodem wordt het daar door bacteriën omgezet in nitraat of door planten opgenomen als ammonium (NH_4^+) (Wageningen University & Research, n.d.). Emissies van ammoniak kunnen aanleiding geven tot verzuring en vermisting van de bodem waardoor uitspoeling van nitraat en metalen naar het grondwater toe gestimuleerd wordt (Brusselman et al., 2018).

3.2 Ammoniakemissies in Nederland

Uit Figuur 1 blijkt dat in Nederland de **landbouwsector** de grootste emissiebron van ammoniak in de lucht in Nederland is. De totale ammoniak emissie van de landbouw bedroeg 111 000 ton in 2015 (Emissieregistratie, 2017). De berekeningen voor de ammoniakemissies worden gedaan met het model 'National Emission Model for Agriculture' (NEMA). De emissie wordt berekend op basis van informatie over dierenaantallen, stikstofexcretie, huisvestingssysteem, gebruikte uitrijdtechnieken en emissiefactoren (Rijksoverheid, 2017).



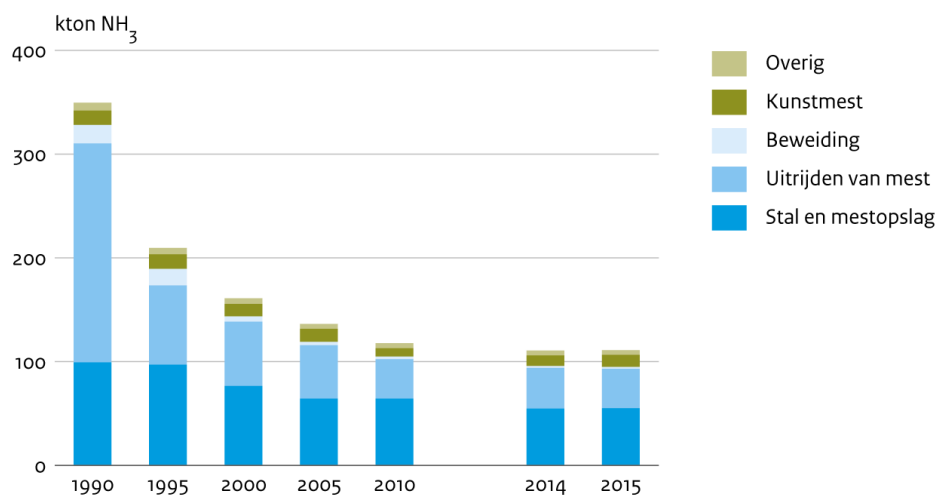
Figuur 1: Ammoniakemissies van verschillende sectoren in kg/jaar (Emissieregistratie, 2017).

In Nederland zijn in de periode van 1990 tot 2015 de ammoniakemissies door de land- en tuinbouw met ongeveer 65% afgenomen. In de periode tot 2000 was deze afname sterker dan de periode erna. In 2015 wijzigde de berekende ammoniakemissie nagenoeg niet ten opzichte van 2014. De ammoniakemissies door land- en tuinbouw zijn voornamelijk afkomstig van feces en urine van dieren in de stallen, het uitrijden van dierlijke mest en het gebruik van kunstmest. In Figuur 2 wordt het aandeel van deze verschillende

bronnen in functie van de totale ammoniakemissie weergegeven. De afname in de periode van 1990 tot 2015 is het gevolg van de krimp van de veestapel, eiwitarm voeder, afdekken van mestopslagplaatsen, emissiearm bemesten en het gebruik van emissiearme stallen (Rijksoverheid, 2017). Deze figuur toont aan dat de ammoniakemissie afkomstig van het uitrijden van mest sterk gedaald is in de afgelopen decennia. In de jaren negentig werd namelijk het breedwerpig bovengronds uitrijden van mest verboden (Rijksoverheid, 2017). De ammoniakemissies afkomstig van stal en mestopslag vertonen een lichtere daling en de emissies afkomstig van kunstmest blijven nagenoeg constant.

Ter volledigheid wordt opgemerkt dat er recent kritische kanttekeningen gemaakt werden bij de berekeningen van de ammoniak emissies (Hanekamp et al., 2017). Volgens deze auteurs zouden de berekeningen niet stromen met de werkelijke ammoniakemissies.

Emissie ammoniak (NH_3) door land- en tuinbouw

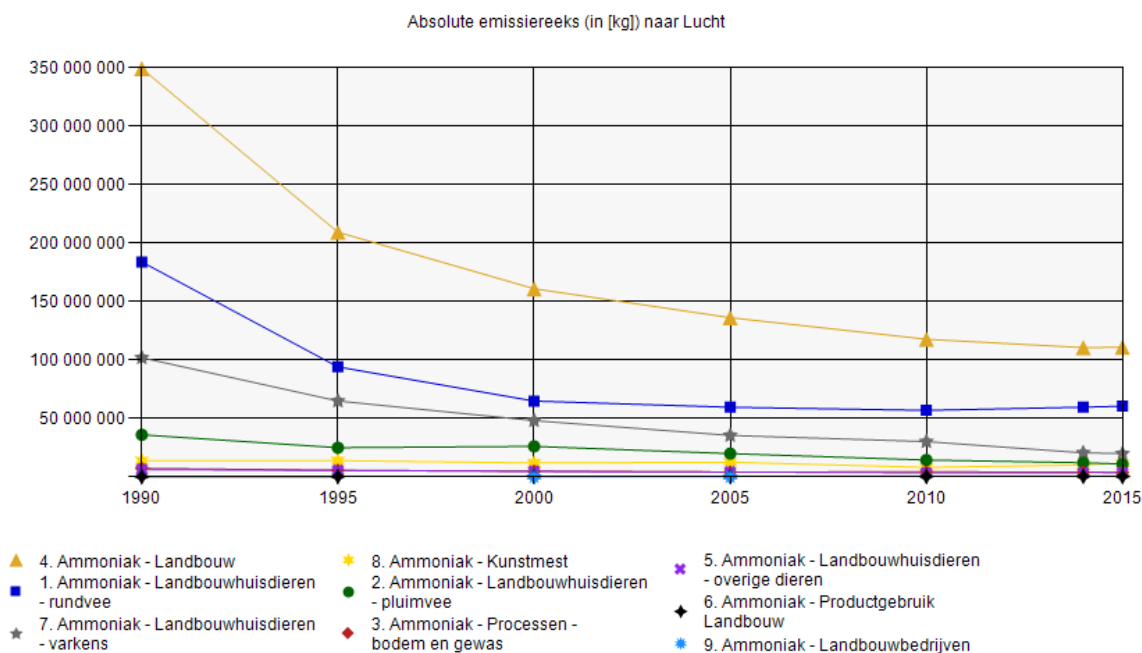


Bron: Emissieregistratie

PBL/jul17
www.clo.nl/nl010114

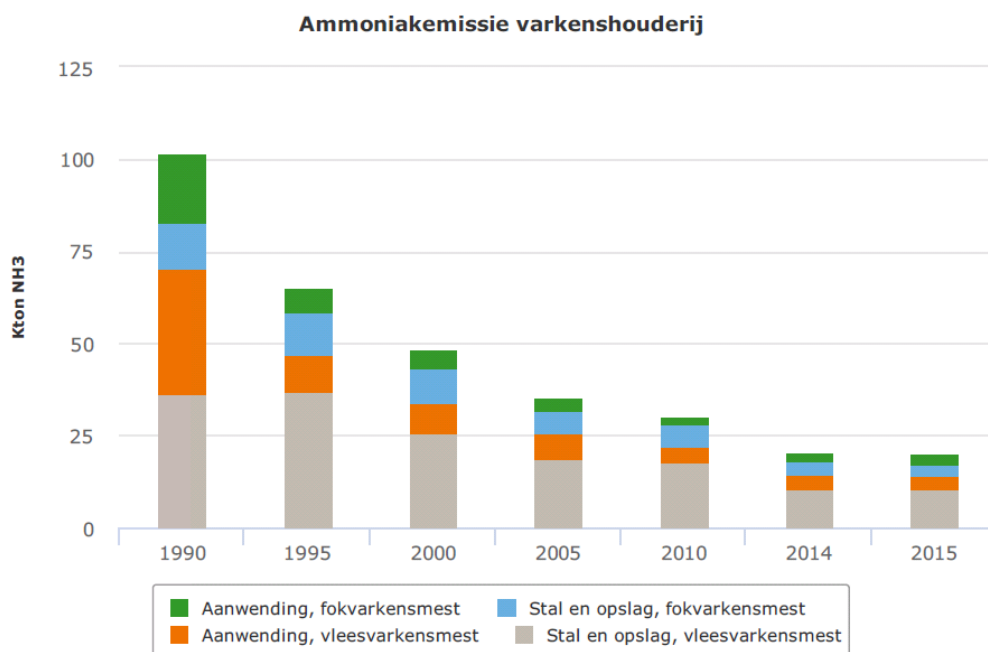
Figuur 2: Ammoniakemissies door land- en tuinbouw (Rijksoverheid, 2017).

In Figuur 3 worden de ammoniakemissies voor de verschillende sectoren binnen de landbouw weergegeven. Hieruit blijkt dat **rundvee** de belangrijkste ammoniakemissiebron vormt naar lucht toe. De totale uitstoot in de rundveesector bedroeg 60 460 ton in 2015. Dit is ongeveer 55% van de totale ammoniakemissie van de landbouwsector. De uitstoot van de varkenshouderijen bedroeg 19 890 ton in 2015. Dit is ongeveer 18% van de totale ammoniakemissie van de landbouwsector (Emissieregistratie, 2017).



Figuur 3: Ammoniakemissies van verschillende sectoren binnen de landbouw in kg/jaar (Emissieregistratie, 2017).

Uit Figuur 3 blijkt dat ammoniakemissies van de rundveehouderijen een sterke daling (ongeveer 68 %) kennen tussen 1990 en 2010. Sinds 2010 is er een lichte stijging in de ammoniakemissies bij rundveehouderijen op te merken. De totale daling van de ammoniakemissies in de varkenshouderijen tussen 1990 en 2015 bedraagt bijna 80% (Figuur 4). Tussen 1990 en 2000 is de ammoniakemissie in de varkenshouderij gehalveerd en vervolgens tussen 2000 en 2010 met een derde verder gedaald. Tussen 2010 en 2015 vond een verdere versnelling van de daling plaats. De pluimveehouderij vertoont een daling van ongeveer 60% in ammoniakemissies tussen 1990 en 2015 (Wageningen University & Research, 2018).



Bron: Emissieregistratie.nl, bewerking Wageningen Economic Research.

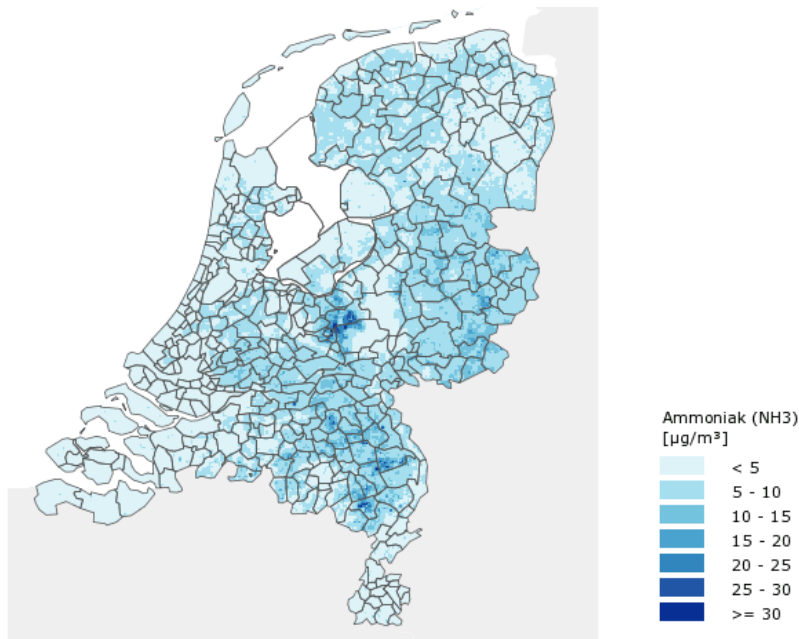
Figuur 4: Ammoniakemissie in varkenshouderijen doorheen de afgelopen jaren (Kton NH₃) (Wageningen University & Research, 2017).

De daling tussen 1990 en 1995 komt vooral door het emissiearm aanwenden van varkensmest. Vervolgens werd er overgeschakeld naar emissiearme stallen waardoor er tussen 1995 en 2010 een verdere daling in ammoniakemissie werd gerealiseerd. Verder werd de daling doorheen de jaren ook veroorzaakt door de daling van de stikstofproductie van varkens door een afname van het aantal dieren en een afname van de stikstofexcretie per dier. De daling na 2010 wordt voornamelijk veroorzaakt door een toename van het aantal luchtwassers en doordat steeds meer varkensmest wordt geëxporteerd waardoor er in Nederland minder emissie optreedt bij het aanwenden van de mest.

3.3 Gezondheidseffecten van ammoniak

Ammoniak heeft een karakteristieke, sterke prikkelende geur die voor veel mensen als onaangenaam wordt ervaren. Pas bij inademing van zeer hoge ammoniakconcentraties kunnen zich schadelijke effecten als irritatie van ogen en luchtwegen voordoen (Perbal, 1987). De 'U.S. Environmental Protection Agency' (EPA) bracht in september 2016 een studie uit waarin een toxicologische review wordt uitgevoerd voor de inhalatie van ammoniak (EPA, 2016). De 'No Observed Adverse Effect Level' (NOAEL) voor continue blootstelling wordt hierin vastgelegd op 4,9 mg/m³ of 4900 µg/m³. Na het toepassen van een onzekerheidsfactor van 10, om rekening te houden met gevoelige personen, komt de chronische referentiegrenswaarde op 0,5 mg/m³ of 500 µg/m³.

In Figuur 5 staan de gemiddelde ammoniakconcentraties in de Nederlandse lucht voor 2016 weergegeven. De gebieden met een intensieve veeteelt (Noord-Brabant en Noord-Limburg) hebben een hogere ammoniakconcentratie in vergelijking met andere gebieden in Nederland. Uit deze figuur blijkt dat de meeste concentraties in de lucht zich onder 30 µg/m³ bevinden, deze waarde ligt meer dan 100 maal lager dan de NOAEL en meer dan 10 maal lager dan de chronische referentiewaarde. Op basis van deze vergelijking lijkt de kans dat de ammoniakconcentraties in de lucht bij omwonenden van stallen op een rechtstreekse manier een negatief effect teweeg kunnen brengen door chronische blootstelling eerder beperkt. Deze conclusie is enkel geldig indien er geen interacties optreden met andere vervuilende verbindingen. In een Amerikaanse studie naar de gezondheid van pluimveehouders heeft men vastgesteld dat het effect van de aanwezigheid van ammoniak en fijnstof samen op de longfunctie 53% tot 156% hoger was dan de individuele effecten van de gassen (Donham et al., 2002). De concentraties waaraan pluimveehouders blootgesteld worden, zijn echter veel hoger dan deze waaraan omwonenden blootgesteld worden. Anderzijds kunnen omwonenden ook blootgesteld worden aan gassen en fijnstof die niet afkomstig zijn van de veehouderij. Het is onduidelijk in welke mate dit fenomeen optreedt bij omwonenden van veehouderijen in Nederland.



Figuur 5: Ammoniakconcentratie in Nederland (µg/m³) (Rijkinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, n.d.).

Ammoniak kan via een tussenstap schade aan de gezondheid toebrengen. Ammoniak kan in de lucht reageren met andere componenten waardoor ammoniumnitraat en ammoniumsulfaat ontstaan. Dit zijn secundaire anorganische aerosolen die ongeveer 40% van het fijnstof uitmaken (Buijsman et al., 2012). De vorming van deze ammoniumzouten heeft tijd nodig. Hierdoor worden er geen lokale concentratieverschillen in secundair fijnstof nabij bronnen van ammoniak gevonden. De problematiek van de vorming van secundair fijnstof stelt zich daarom niet op het vlak van omwonenden van stallen, maar is een algemeen probleem voor de volksgezondheid. Het is niet duidelijk hoeveel gezondheidsschade op deze indirecte wijze wordt veroorzaakt. De gezondheidseffecten van fijnstof worden in sectie 4.3 besproken.

3.4 Wettelijk toetsingskader ammoniak

Er bestaat een wet- en regelgeving voor het beoordelen van ammoniak in Nederland. Er wordt een onderscheid gemaakt tussen ammoniakdepositie en ammoniakemissie. Voor de effecten van ammoniakdepositie van ammoniak op natuurgebieden bestaat de Wet natuurbescherming, waaronder de Programmatische Aanpak Stikstof (PAS). De PAS heeft als doelstellingen om de stikstofdepositie te doen dalen door het nemen van maatregelen aan de bron en het uitvoeren van herstelmaatregelen voor stikstofgevoelige natuur. In de PAS is ook bepaald dat een deel van de daling van de stikstofdepositie mag worden ingezet voor nieuwe activiteiten of uitbreiding van bestaande activiteiten die stikstofdepositie veroorzaken. Dit wordt de ontwikkelingsruimte genoemd. Op deze manier blijft de stikstofdepositie dalen, terwijl er ook ruimte is voor investeringen in schonere productietechnieken, zoals emissiearme stalsystemen in de veehouderij. Via AERIUS, het ammoniakverspreidingsmodel, wordt de depositie van een bedrijf op de meest nabij gelegen Natura2000 gebieden berekend (Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedsel kwaliteit, n.d.).

De Wet ammoniak en veehouderij (Wav) biedt samen met het Besluit emissiearme huisvesting (Beh) het wettelijk instrumentarium om de nadelige gevolgen van ammoniakemissie uit dierenverblijven te

beperken. Het Beh bepaalt dat dierenverblijven emissiearm moeten zijn, als er emissiearme huisvestingssystemen beschikbaar zijn en bevat maximale emissiewaarden. Alleen huisvestingssystemen met een emissiefactor die lager is dan of gelijk is aan de maximale emissiewaarde zijn toegestaan. De maximale emissiewaarden gelden voor melkvee, vleeskalveren, varkens, kippen, vleeskalkoenen en vleeseenden (Rijkswaterstaat Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, n.d.).

Het Wav biedt een kader voor aanvullende bescherming van de zeer kwetsbare gebieden die door de provincies zijn aangewezen. In de Regeling ammoniak en veehouderij zijn emissiefactoren opgenomen per diercategorie en per huisvestingssysteem (Rijkswaterstaat Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat, n.d.).

4 Fijnstof

4.1 Wat is fijnstof?

Fijnstof is een verzamelnaam voor een grote variëteit aan deeltjes in de lucht met een verschillende grootte, herkomst en chemische samenstelling. Fijnstof wordt onderverdeeld in verschillende fracties. PM10 duidt op alle stofdeeltjes met een aerodynamische diameter kleiner dan 10 μm , waarbij PM staat voor '*particulate matter*'. Deze fractie kan nog verder onderverdeeld worden, vb. PM_{0,1}; PM_{2,5} en deeltjes tussen PM10 en PM_{2,5}.

De eerste categorie zijn deeltjes die **kleiner zijn dan 0,1 μm of 100 nm (PM_{0,1})**. Deze deeltjes komen voornamelijk vrij bij verbrandingsprocessen. De hoogste concentraties van deze fractie worden vooral langs drukke verkeerswegen gevonden. Uit recent onderzoek blijkt dat in de buurt van veehouderijen de concentraties van deze fractie zeven tot acht keer lager liggen dan bij drukke wegen en ook lager zijn dan een stedelijk achtergrondniveau (Strak et al., 2011).

Een tweede categorie is PM_{2,5} en omvat de deeltjes die kleiner zijn dan 2,5 μm . **PM_{2,5}** zijn deeltjes die tot diep in de longen en luchtwegen kunnen doordringen (Gezondheidsraad, 2012). Deze deeltjes ontstaan door samenklontering van zeer kleine stofdeeltjes en door chemische reacties en condensatie in de atmosfeer. Een belangrijke component hierbij is ammoniak, zoals reeds in sectie 3.3 werd beschreven.

De derde categorie omvat de deeltjes **tussen PM10 en PM_{2,5}**. Deze deeltjes zijn voornamelijk afkomstig van mechanische processen. Deze deeltjes verspreiden zich door opwaaien en opwarrelen van straatstof, bodemstof en bouwstof. Verder kan er ook organisch materiaal voorkomen in deze fractie (Gezondheidsraad, 2012). In stallen is deze fractie voornamelijk afkomstig van fecale deeltjes, huid- en verendeeltjes en voederbestanddelen. In varkenshouderijen is fijnstof voornamelijk afkomstig van mest. Bij pluimveehouderijen is het fijnstof voornamelijk afkomstig van bestanddelen van veren en mest (Cambra-López et al., 2011).

Verder zijn er ook nog stofdeeltjes die **groter zijn dan 10 μm** . Deze deeltjes zijn voornamelijk afkomstig van mechanische processen. Deze deeltjes zijn groter en hebben een grotere massa, waardoor ze sneller zullen neerslaan en hun verblijftijd in de lucht dus wordt ingekort. De invloed van deze stofdeeltjes wordt hierdoor eerder verwacht op enkele tientallen meters van de stallen. Wanneer deze deeltjes worden ingeademd, komen ze hoofdzakelijk terecht in de neus en in de bovenste luchtwegen (Gezondheidsraad, 2012).

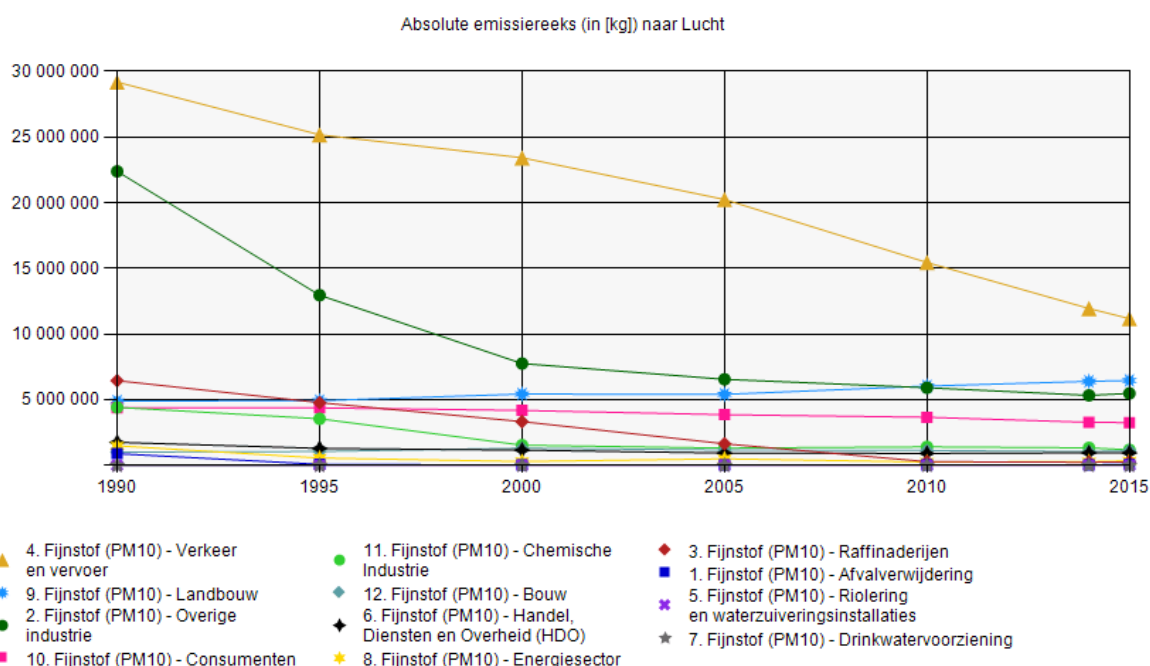
4.2 Fijnstof in Nederland

Secundaire anorganische aerosolen vormen de belangrijkste bijdrage (40%) aan het fijnstof in Nederland. Elementair koolstof en koolstofhoudende verbindingen vormen de tweede belangrijkste bijdrage (25 - 30%). Kleinere bijdragen zijn afkomstig van zeezout, bodemstof en metalen (Buijsman et al., 2012).

De Emissieregistratie stelt jaarlijks de antropogene emissie van primair fijnstof¹ in Nederland vast (Figuur 6). Er wordt geen aparte schatting gemaakt van de fijnere fijnstoffractie (PM_{2,5}), maar enkel van de PM10 fractie (Buijsman et al., 2012). Uit Figuur 6 blijkt dat het **verkeer en vervoer** de grootste bron voor primair fijnstof vormen in Nederland. In het jaar 2015 was het verkeer en vervoer in Nederland verantwoordelijk voor 36% van de totale PM10 emissies. Bijna twee derde van de emissie van fijnstof door

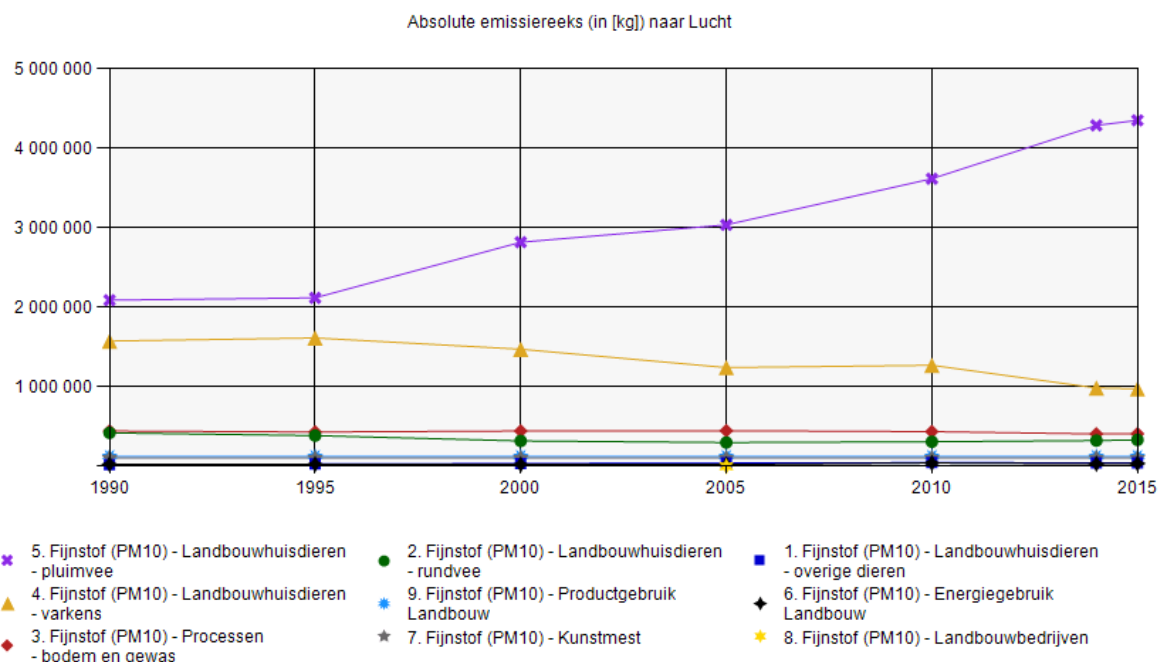
¹ Primair fijnstof is stof dat direct in de atmosfeer wordt gebracht. Secundair fijnstof daarentegen wordt niet direct in de atmosfeer geëmitteerd, maar ontstaat door reacties tussen verschillende componenten.

verkeer en vervoer ontstaat bij de verbranding van motorbrandstoffen; de rest is veroorzaakt door slijtage van wegdek, banden, remvoeringen en bovenleidingen. In 2015 bedroeg de uitstoot van de **landbouwsector** 6 471 ton; dit is ongeveer 20% van de totale primair fijnstof uitstoot in Nederland (Emissieregistratie, 2017).



Figuur 6: Fijnstofemissies (PM10) per sector in kg/jaar (Emissieregistratie, 2017).

In Figuur 7 staan de primaire fijnstofemissies voor de verschillende sectoren binnen de landbouw weergegeven. Uit deze figuur blijkt dat de **pluimveebedrijven** de belangrijkste emissiebron zijn voor primair fijnstof binnen de landbouwsector. De uitstoot bedroeg 4355 ton in 2015; dit is ongeveer 70% van de totale PM10 uitstoot voor dat jaar van de landbouwsector. De varkenshouderijen zijn verantwoordelijk voor ongeveer 15% van primair fijnstof binnen de landbouwsector. Verder valt er op te merken dat de uitstoot van fijnstof enkel bij varkenshouderijen een daling vertoont over de afgelopen jaren. In 1995 bedroeg de uitstoot 1615 ton PM10 en in 2015 was dit 1001 ton PM10, dit is een reductie van 38%. De belangrijkste oorzaak voor deze daling is een toename in het gebruik van luchtwassers in varkensstallen (Wageningen University & Research, 2017).



Figuur 7: Fijnstof emissies (PM10) van verschillende sectoren binnen de landbouw in kg/jaar (Emissieregistratie, 2017).

4.3 Gezondheidseffecten fijnstof

Algemeen geldt dat hoe kleiner het fijnstofdeeltje, hoe dieper het via de luchtwegen in het menselijk lichaam terecht kan komen. PM10 deeltjes kunnen de slijmafvoer in de luchtwegen verstoren, ademhalingsklachten veroorzaken en de gevoeligheid voor luchtweginfecties verhogen. De allerkleinste stofdeeltjes kunnen zelfs tot in het bloed doordringen. Zo kunnen PM_{0,1} deeltjes in de bloedsomloop geraken. Kortstondige blootstelling aan hoge fijnstofconcentraties kan leiden tot ontsteking van de longen, effecten op de luchtwegen en schadelijke effecten op hart- en bloedvaten veroorzaken. Bij langdurige blootstelling aan lagere fijnstofconcentraties bestaat er een hoger risico op het krijgen van aandoeningen aan de luchtwegen en een dalende levensverwachting (Irceline, 2017).

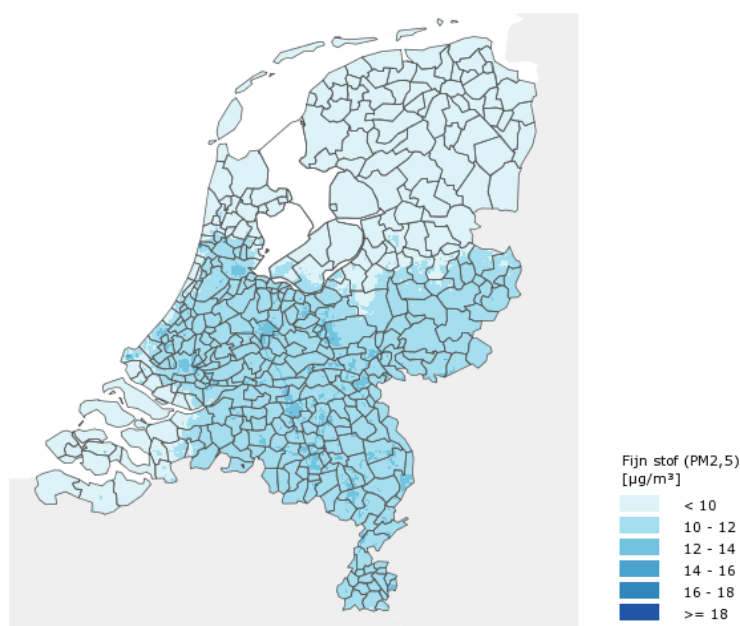
Door de Europese Unie en de Wereldgezondheidsorganisatie (WGO) werden respectievelijk grens- en advieswaarden opgesteld voor PM10 en PM_{2,5} (Tabel 1). De Europese grenswaarden zijn minder streng dan deze geadviseerd door de WGO omdat Europa ook rekening houdt met de economische gevolgen en technische haalbaarheid om tot deze doelstellingen te kunnen komen (de Haan et al., 2008).

De WGO baseert zich voor het bepalen van haar advieswaarden enkel op gezondheidsstudies en houdt dus geen rekening met haalbaarheid of economische belangen. Volgens de WGO is er voor fijnstof echter geen veilige drempelwaarde waaronder geen nadelige effecten voorkomen. Minder fijnstof is dus altijd beter. Enkel de Europese grenswaarden zijn wettelijk bindend.

Tabel 1: Grens- en advieswaarden voor PM₁₀ en PM_{2,5} (µg/m³) zoals voorgeschreven door respectievelijk EU en WGO (tussen haakjes het aantal maximum toegestane overschrijdingsdagen).

	EU		WGO	
	Jaargrenswaarde	Daggrenswaarde	Jaaradvieswaarde	Dagadvieswaarde
PM ₁₀	40	50 (35x)	20	50 (3x)
PM _{2,5}	25		10	25 (3x)

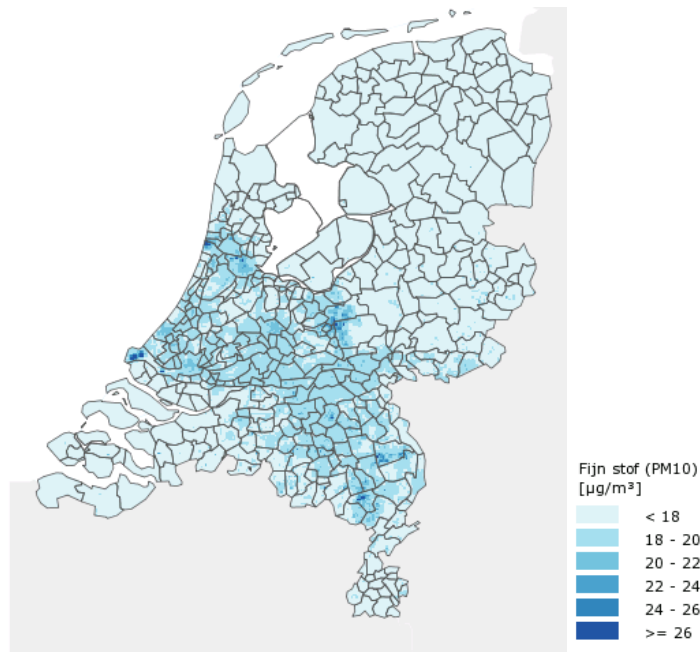
Onderstaande kaarten (Figuur 8 en Figuur 9) tonen de PM_{2,5} en PM₁₀ fijnstofconcentratie in 2016 in Nederland. Figuur 8 toont aan dat op de meeste plaatsen de PM_{2,5}-concentratie lager is dan 18 µg/m³. Er wordt dus op de meeste plaatsen in Nederland voldaan aan de Europese jaargrenswaarde (Tabel 1). De jaaradvieswaarde van de WGO (10 µg/m³) wordt echter wel op veel plaatsen overschreden.



Figuur 8: fijnstofconcentratie (PM_{2,5}) in Nederland (µg/m³) (Rijkinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, n.d.).

Uit Figuur 9 blijkt dat op de meeste plaatsen de PM₁₀-concentratie lager is dan 26 µg/m³. Er zal dus op de meeste plaatsen voldaan zijn aan de Europese jaargrenswaarde (40 µg/m³). De jaaradvieswaarde van de WGO (20 µg/m³) voor PM₁₀ wordt wel op meerdere plaatsen overschreden.

De gebieden met intensieve veehouderijen, Noord-Brabant en noorden van Limburg, vertonen hogere fijnstofconcentraties (PM_{2,5} en PM₁₀) in vergelijking met provincies zonder veel landbouw activiteit (Drenthe). Deze fijnstofconcentraties zijn echter niet enkel aan de veehouderijen gelinkt. Er worden vergelijkbare hoge fijnstofconcentraties waargenomen in drukbevolkte steden (vb. Amsterdam en Rotterdam) (Figuur 8 en Figuur 9)



Figuur 9: fijnstofconcentratie (PM10) in Nederland ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) (Rijkinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, n.d.).

In tegenstelling tot ammoniak, zijn er in het geval van fijnstof verschillende andere bronnen naast landbouw die bijdragen aan primaire fijnstof emissie (zie 4.2). Het aandeel van lokale landbouwbedrijven aan de concentratie van primair fijnstof in hun omgeving zal dan ook een stuk lager zijn dan deze aan ammoniak.

Daarnaast is het ook belangrijk om de schadelijkheid van de fijnstof deeltjes in beschouwing te nemen. Op basis van epidemiologische studie wijst men momenteel elementaire koolstof, organische koolstof en zwarte koolstof aan als meest gevaarlijke deeltjes (Janssen et al., 2011; geciteerd door Buekers et al., 2014). Dit zijn de deeltjes die gevormd worden bij verbrandingsprocessen gelinkt aan verkeer, energieverbruik en industriële activiteiten.

De toxiciteit van fijnstof deeltjes die door veeteeltbedrijven en hun randactiviteiten geproduceerd worden varieert sterk. Het lokale bodemstof dat ontstaat door bewerkingen van het land wordt geacht minder schadelijk te zijn omdat ze inert zijn en vrij groot ($2,5 - 10 \mu\text{m}$).

Uit toxicologische testen blijkt dat zuivere ammoniumnitraat en ammoniumsulfaat (secundair fijnstof) in de concentraties waarin ze in de atmosfeer voorkomen niet toxisch zijn (Buekers et al., 2014).

4.4 Wettelijk toetsingskader fijnstof

Er bestaat een toetsingskader voor fijnstofemissies afkomstig van veehouderijen waarbij de fijnstofbelasting naar de omgeving toe wordt beoordeeld. Dit toetsingskader is gebaseerd op de PM10 concentratie. Er wordt een inschatting gemaakt van de fijnstofconcentratie in de omgeving door gebruik te maken van een verspreidingsmodel. In dit model worden de dieren aantallen, het huisvestingssysteem, bijhorende emissiefactoren en de emissiepunten ingevoegd. Op basis van deze gegevens berekent het model de belasting op de omliggende bewoning in de vorm van PM10 concentratieniveaus. Deze berekende concentraties worden getoetst aan grenswaarden die zijn voorgeschreven in de EU-richtlijn 2008/50/EG. De daggemiddelde PM10-concentratie van $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ mag daarbij niet meer dan 35 dagen per jaar worden overschreden (bij benadering een 90-percentielwaarde voor daggemiddelden). In de tweede plaats mag de

jaargemiddelde PM10-concentratie het niveau van $40\mu\text{g}/\text{m}^3$ niet overschrijden (Winkel & Wouters, 2014). Wanneer er overschrijding is van de grenswaarde is het toegestaan om de concentratie aan zeezout in de lucht buiten beschouwing te laten. Deze zeezoutaftrek is uiteraard afhankelijk van de locatie (Rutledge-Jonker et al., 2017)

5 Endotoxinen

5.1 Algemeen

5.1.1 Aanleiding

“Verlaging van de longfunctie wordt gevonden bij mensen die veel veehouderijen in hun omgeving hebben (15 of meer bedrijven en ook melkvee en varkens binnen een kilometer afstand van een woning). Dit hangt vooral samen met het aantal veehouderijen rond de woning en hangt niet duidelijk samen met specifieke veehouderijtypen. Het meest waarschijnlijk is dat de longfunctieveranderingen samenhangen met de blootstelling aan **fijnstof en endotoxinen** direct rond de veehouderijbedrijven” (Maassen et al., 2016).

Bovenstaande kader toont één van de conclusies uit het VGO-rapport in Nederland. De Gezondheidsraad stelt dat het nog niet duidelijk is of er sprake is van een oorzakelijk verband. Daarvoor is het aantal kwalitatief goede onderzoeken te beperkt (Gezondheidsraad, 2018).

Er bestaat nog veel onduidelijkheid omtrent de blootstelling aan endotoxinen en de effecten hiervan. Om deze reden wordt in dit hoofdstuk van de literatuurstudie een samenvatting weergegeven van de huidige kennis over endotoxinen.

5.1.2 Wat zijn endotoxinen

Endotoxinen maken deel uit van het buitenste membraan van Gramnegatieve² bacteriën en komen vrij bij het afsterven van deze organismen. De buitenste membraan van Gramnegatieve bacteriën bestaat uit eiwitten, lipiden en lipopolysachariden (LPS). De LPS-moleculen of endotoxinen bestaan uit een lipide- en een polysacharidedeel. Het lipide-deel wordt ‘lipide A’ genoemd en is verantwoordelijk voor de toxiciteit van het endotoxine. De samenstelling van het hydrofobe³ lipide A is gelijkaardig voor uiteenlopende bacteriesoorten. Het hydrofiele⁴ polysacharidedeel daarentegen kan wel variëren in samenstelling. Endotoxinen zijn vrij bestendig tegen hitte, pas bij een temperatuur van 177°C worden LPS geïnactiveerd (Gezondheidsraad, 2010).

Endotoxinen zijn grote moleculen die deel kunnen uitmaken van bacterieresten, gebonden zijn aan stofdeeltjes of aanwezig kunnen zijn in waterdruppeltjes. Via deze wegen kunnen endotoxinen zich in de omgeving verspreiden. Overal waar sprake kan zijn van blootstelling aan bacteriën of groei van bacteriën is potentieel blootstelling aan endotoxinen te verwachten (Winkel & Wouters, 2014). Het is dus belangrijk om op te merken dat endotoxinen bijgevolg algemeen voorkomen en niet enkel in veehouderijen. Specifiek gelinkt aan de land- en tuinbouw kunnen endotoxinen afkomstig zijn van:

- bacteriën die op planten of productiegewassen voorkomen. Bij het oogsten of het verwerken van deze gewassen kunnen er endotoxinen vrijkomen. Voeder voor de dieren in een veehouderij kan daarom een potentiële bron zijn van endotoxinen;
- bacteriën die voorkomen in de ontlasting of mest. Via stofdeeltjes kunnen de endotoxinen zich vervolgens verspreiden;

² Gramnegatieve en Grampositieve bacteriën verschillen in de structuur van de celwand. Gramnegatieve cellen hebben een buitenste membraan (*‘outer membrane’*) en een heel dunne peptidoglycaanlaag. Grampositieve bacteriën daarentegen hebben een dikke peptidoglycaanlaag.

³ Hydrofobe stoffen zijn stoffen die waterafstotend zijn en bijgevolg zeer slecht met water te mengen zijn. Hydrofoob betekent letterlijk ‘watervrezend’.

⁴ De term hydrofiel beschrijft dat iets ‘van water houdt’. Een hydrofiele molecule is typisch elektrisch gepolariseerd en in staat tot het aangaan van waterstofbruggen. Hierdoor lost het gemakkelijk op in polaire vloeistoffen zoals water, en minder goed in apolaire vloeistoffen, zoals olie.

- bacteriën die afkomstig zijn van de huid of vacht van mensen en dieren.

5.1.3 Meetmethodes voor endotoxinen in de lucht

Aangezien de blootstelling aan endotoxinen geassocieerd is met verschillende gezondheidseffecten (zie 5.1.4 en 5.2.7) is er de laatste jaren meer aandacht voor het bepalen van endotoxinen in de lucht van verschillende werkomgevingen. Op deze manier kan een inschatting gemaakt worden aan welke concentraties werknemers in verschillende sectoren worden blootgesteld. In deze paragraaf worden de verschillende stappen voor het bepalen van het endotoxinegehalte in de lucht beschreven, alsook de variatie die kan optreden tijdens deze stappen. In de eerste stap wordt er een bepaald volume lucht bemonsterd met behulp van bemonsteringsapparatuur. Vervolgens wordt het monster opgeslagen en getransporteerd naar het labo waar het verder wordt geanalyseerd.

5.1.3.1 Standaardprotocol

Er werden door enkele normalisatie-instituten documenten gepubliceerd die een protocol beschrijven voor de bepaling van endotoxinen. Deze protocols vertonen variaties in de verschillende stappen van het proces. 'The European Committee for Standardization' (CEN) heeft twee standaarden opgesteld voor het bepalen van de beroepsgerelateerde blootstelling aan endotoxinen. De standaard EN 13098 (2000) beschrijft voorschriften voor het meten van micro-organismen en endotoxinen die zich in de lucht van een werkplaats bevinden (CEN, 2000). Het gedeelte betreffende de bepaling van endotoxinen is in dit standaardprotocol slechts vrij beknopt beschreven. Een tweede standaard die werd opgesteld door CEN is EN 14031 (CEN, 2003). Dit document focust zich uitsluitend op het bepalen van endotoxinen in de lucht van verschillende werkomgevingen. In de Verenigde Staten werd de standaard ASTM E2144-01 (2007) opgesteld (ASTM, 2007). Dit document beschrijft de bepaling van endotoxinen specifiek voor bedrijven in de metaalindustrie. In Tabel 2 wordt een overzicht gegeven van het Amerikaanse en het Europese (EN 14031) protocol (Duquenne et al., 2013). Vergelijking van deze twee standaarden toont aan dat er variaties zijn in de verschillende stappen van de endotoxinebepaling.

Tabel 2: Verschillende stappen van het Europese (EN 14031) en het Amerikaanse (E2144-01) standaardprotocol (Duquenne et al., 2013).

Stap	Standaard EN 14031	Standaard ASTM E2144-01
Toepassingsgebied	Alle werkomgevingen	Endotoxinen afkomstig van metaalbewerkingsprocessen
Bemonstering		
Methode	Bemonstering met filter	Bemonstering met filter
Bemonsteringsapparatuur	Three-piece closed-face cassette	Three-piece closed-face cassette
Filtertype	Glasvezeltype	Glasvezeltype
Filterbehandeling	180°C/4u	Geen informatie
Bemonsteringstijd	Geen informatie	Geen informatie
Transport en opslag luchtmonster		
Temperatuur	Transport in cassette (omgevingstemperatuur)	4°C
Maximale opslagtijd/atmosfeer opslagruimte	< 24u/droge omgeving	12u/ geen informatie
Extractie		
Type extractievloeistof	Pyrogeenvrij steriel gezuiverd water	Pyrogeenvrij steriel gezuiverd water

Stap	Standaard EN 14031	Standaard ASTM E2144-01
Volume	5 ml	20 ml
Analyse endotoxinen	Chromogene kinetische LAL-test	Chromogene kinetische LAL-test
Eenheid	EU/m ³	EU/m ³

5.1.3.2 Bemonstering

In de literatuur worden twee verschillende bemonsteringssystemen beschreven voor de bepaling van endotoxinen in de lucht, namelijk filtratie en impingers (Winkel & Wouters, 2014).

Impingers

Bij impingers worden de deeltjes gecapteerd in een waterige oplossing. Het voordeel van deze techniek is dat er geen aparte extractie uitgevoerd hoeft te worden, maar een nadeel is dat de afvangstkenmerken (bemonsterde deeltjesfractie) minder goed gedefinieerd zijn (Winkel & Wouters, 2014). In deze literatuurstudie werd er maar één enkele studie gevonden waarbij een impinger wordt gebruikt als bemonsteringsmethode (Aarnink et al., 2015).

Filtratie

Meestal wordt er gebruik gemaakt van een ‘three-piece closed-face cassette’ (CFC) filter. Dit is een toestel waarbij een pompje lucht aanzuigt, via een vacuüm, doorheen een filter die zich in een cassette bevindt. Het gebruik hiervan wordt voorgeschreven in de drie hogervermelde standaarden (Harper & Ashley, 2013).

Soort filter

In de meetvoorschriften EN 14031 en ASTM E2144-01 wordt het gebruik van glasvezelfilters voorgeschreven. In de praktijk worden er echter ook polycarbonaatfilters, teflonfilters en polyvinylchloride (PVC) filters gebruikt. Het filtertype dat wordt gebruikt bij de bemonstering heeft een invloed op het eindresultaat. Onderzoek heeft aangetoond dat glasvezelfilters hogere endotoxineconcentraties opleveren in vergelijking met polycarbonaat- en PVC-filters (Stephenson et al., 2004). Een mogelijke verklaring hiervoor is dat endotoxinen geabsorbeerd worden op het oppervlak van bepaalde filtermaterialen en hierdoor niet meer beschikbaar zijn voor het reagent van de *Limulus amoebocyte lysate* (LAL) test (zie 5.1.3.5) (Spaan et al., 2007).

Filter behandeling

Om contaminatie te vermijden, is het belangrijk dat het bemonsteringstoestel wordt geconditioneerd voorafgaand aan een nieuwe meting. De standaard EN 14031 beschrijft dat de conditionering dient te gebeuren door middel van een warmtebehandeling bij 180°C gedurende vier uur. In het Amerikaanse standaardprotocol wordt er geen informatie gegeven over deze conditioneringsstap. In de literatuur zijn er geen data beschikbaar die de contaminatie van het bemonsteringstoestel en het effect hiervan op de meting beschrijven (Duquenne et al., 2013).

Bemonsteringstijd

Er bestaat onduidelijkheid omtrent de bemonsteringstijd die nodig is om endotoxinen in de lucht te bepalen. In beide standaarddocumenten wordt er geen informatie gegeven over de duur van de bemonstering van endotoxinen (Tabel 2). In sommige studies wordt er gedurende enkele minuten bemonsterd, daar waar het in andere studies over verschillende uren gaat. Er is verder onderzoek nodig om tot een consensus te komen in verband met de bemonsteringstijd. In de review van Duquenne et al. (2013) worden enkele aandachtspunten voor de bemonsteringstijd opgesomd waaronder de gevoeligheid van de

bemonsteringsmethode. Deze is namelijk afhankelijk van de bemonsteringstijd. Verder dient men ook rekening te houden met de stabiliteit van de endotoxinen gecollecteerd op de filter.

5.1.3.3 Transport en opslag

De voorschriften voor opslag en transport van luchtmonsters vertonen eveneens variaties tussen de verschillende standaardprotocollen (Tabel 2).

De vorm waaronder het luchtmonster is opgeslagen (in de cassette van de filter of in de extractievloeistof), de temperatuur, de opslagtijd en de relatieve vochtigheid van de omgevingslucht zijn parameters die kunnen verschillen tijdens het transport en de opslag. Het is gekend dat bij biologische monsters transport- en opslagcondities een significant effect kunnen hebben op het eindresultaat. Ondanks deze kennis werd er nog maar beperkt onderzoek uitgevoerd naar het effect hiervan op de bepaling van het endotoxinegehalte. Het is belangrijk dat er duidelijke afspraken omtrent het transport en de opslag van het luchtmonster worden gemaakt. Hierbij is het tevens van belang dat er geen contaminatie kan optreden met de omgeving. Verder is het ook belangrijk dat tijdens deze stappen wordt vermeden dat endotoxinen zich afzetten tegen de wanden van het bemonsteringstoestel vermits dit tot een onderschatting van de endotoxineconcentratie zou kunnen leiden (Duquenne et al., 2013).

Daarnaast bleek uit onderzoek dat glasvezelfilters die geëxtraheerd en geanalyseerd werden op dezelfde dag als de bemonsteringsdag een hogere endotoxineconcentratie vertoonden in vergelijking met filters die eerst een paar dagen opgeslagen werden bij 4 °C. De endotoxineconcentratie daalde met 10%, 30% en 70% na respectievelijk 2, 7 en 14 dagen (Laitinen et al., 1992). Het onderzoek van Morgenstern et al. (2006) daarentegen observeerde een stijging van 20% in het endotoxinegehalte na een jaar opslag van de filter (zonder extractie) bij 4 °C in vergelijking met stalen zonder opslag. Het is duidelijk dat een dergelijk lange opslagduur geen zin heeft en moet vermeden worden. De temperatuur tijdens de opslag van het luchtmonster heeft ook een invloed op de gemeten endotoxineconcentratie. In het onderzoek van Douwes et al. (1995) werd een daling in de gemeten endotoxineconcentratie waargenomen na invriezen van de monsters (25% daling per vries-dooi-cyclus). Opslag van het luchtmonster bij 7 °C daarentegen had geen effect op de endotoxineconcentratie.

5.1.3.4 Extractiestap

In de extractiestap worden de endotoxinen op de filter getransfereerd naar een waterige fase. De procedure moet ervoor zorgen dat de endotoxinen op een efficiënte manier worden geëxtraheerd van de filter. De voorschriften voor de extractiestap verschillen tussen de Europese en de Amerikaanse standaard (Tabel 2). Hierdoor kunnen er variaties optreden in de gemeten endotoxineconcentraties tussen verschillende labo's. Een ringstudie waarbij 13 verschillende laboratoria betrokken waren, toonde aan dat bij het gebruik van verschillende protocollen de resultaten varieerden met een factor 14 (Chun et al., 2006). Deze variatie tussen verschillende labo's werd beperkt tot een factor 6 wanneer hetzelfde extractieprotocol werd toegepast. Deze studie bevestigt dus het belang van een standaardprotocol.

Laitinen (1999) toonde aan dat de extractie-efficiëntie afhankelijk is van het **filtertype** dat wordt gebruikt tijdens de bemonstering. Deze bedroeg 90%, 80%, 40% en 5% respectievelijk voor glasvezelfilters, cellulose-ester-filters, polycarbonaatfilters en PVC-filters.

Pyrogeenvrij steriel gezuiverd water al dan niet met toevoeging van het detergent Tween-20⁵ wordt het vaakst als **extractievloeistof** gebruikt. De invloed van de toevoeging van Tween-20 verschilt van studie tot

⁵ Tween-20 is een niet-ionische detergent dat wordt gebruikt in biochemische toepassingen, onder meer om perifere eiwitten te verwijderen.

studie. Sommige studies suggereren dat dit het extractieproces significant verbetert (Spaan et al., 2007), uit andere studies blijkt dit niet het geval te zijn (Thorne et al., 2003).

Omtrent het **vloeistofvolume** dat gebruikt wordt om de extractie uit te voeren bestaat evenmin een consensus. Dit kan eveneens leiden tot verschillen in gemeten endotoxineconcentraties tussen studies (Liebers et al., 2007).

5.1.3.5 LAL-test

Na de extractiestap bevinden de endotoxinen zich in de vloeistoffase. De meest gebruikte methode om de opgeloste endotoxinen te bepalen is de *Limulus amoebocyte lysate* (LAL) test (Winkel & Wouters, 2014). Er bestaan ook nog enkele alternatieve methoden, maar aangezien deze in geen enkele van de in deze literatuurstudie vermelde studies werden gebruikt, worden deze niet verder besproken.

De LAL-test maakt gebruik van de specifieke en natuurlijke eigenschappen van cellen afkomstig van de lichaamsvloeistof van de Molukkenkreeft (*Limulus amoebocytes*). Wanneer deze cellen in contact komen met endotoxinen wordt er een intracellulaire gel gevormd. Deze test wordt al tientallen jaren met diverse modificaties gebruikt om het endotoxinegehalte te bepalen. De modificatie die het meest gebruikt wordt, is de zogenaamde chromogene kinetische LAL-test. Deze wordt voorgeschreven in het Europese en Amerikaanse standaardprotocol. Wanneer de endotoxinen worden gemengd met het LAL-reagens gaat het mengsel door een opeenvolging van enzymreacties geel kleuren. Deze kleurovergang wordt gevolgd met behulp van een spectrofotometer⁶ bij een golflengte van 405 nm. De snelheid waarmee de optische densiteit bij een golflengte van 405 nm (OD 405) toeneemt, is een maat voor de endotoxineconcentratie. De hoeveelheid endotoxinen in het medium wordt bepaald door de gemeten OD 405 te vergelijken met de OD 405 van een standaardreeks (oplossingen met een gekende endotoxineconcentratie). Het resultaat wordt uitgedrukt in EU per milliliter staal (Duquenne et al., 2013). Dit kan vervolgens omgerekend worden naar EU/m³ lucht door het volume extractievloeistof dat gebruikt werd en het volume lucht dat bemonsterd werd in rekening te brengen.

Ook tijdens de analyse van endotoxinen met de LAL-test kunnen er variaties optreden. Hieronder worden een aantal parameters opgesomd die het eindresultaat kunnen beïnvloeden.

Ondanks dat de algemene structuur van endotoxinen gelijkaardig is onafhankelijk van de bron, kunnen er echter wel variaties optreden in de **structuur** naargelang de bacteriesoort waarvan de endotoxinen afkomstig zijn. Deze structurele variaties kunnen een directe impact hebben op de toxiciteit, alsook op de reactiviteit van de endotoxinen in de LAL-test (Caroff & Karibian, 2003).

Zoals hierboven reeds beschreven bestaan endotoxinemoleculen (zie 5.1.2) uit een hydrofiel en een hydrofoob deel. Deze delen kunnen met elkaar reageren, maar ook met andere chemische componenten. In waterige oplossingen kunnen er **verbindingen** gevormd worden en structuren ontstaan met een hogere moleculaire massa. Deze structuren kunnen de reactiviteit van de LAL-test doen dalen (Duquenne et al., 2013).

De LAL-test is een zeer gevoelige test. Een lage hoeveelheid endotoxinen resulteert reeds in een positief testresultaat. Bijgevolg is het belangrijk dat glaswerk dat gebruikt wordt tijdens de LAL-test vrij is van endotoxinen, zo niet bestaat de mogelijkheid dat **contaminatie** zal leiden tot een foutief resultaat (Duquenne et al., 2013). Ringtesten toonden aan dat de reproduceerbaarheid binnen één labo goed is, maar dat er aanzienlijke verschillen optreden tussen labo's (Industox, n.d.).

⁶ Een spectrofotometer is een apparaat waarmee de absorptie van zichtbaar licht of ultraviolet (UV) licht van een bepaalde stof in een te analyseren monster wordt bepaald en waaruit de concentratie kan worden berekend.

Naast de biologische LAL-test kan de endotoxineconcentratie ook met behulp van een chemische analyse bepaald worden met een gaschromatografische methode in combinatie met massaspectrofotometrie (GC-MS). Deze methode meet de absolute massaconcentratie terwijl de LAL-test de biologische activiteit meet. De GC-MS methode wordt toegepast om endotoxinen met verschillende ketenlengtes te kunnen karakteriseren, maar wordt weinig toegepast in studies naar relaties met gezondheidseffecten (Winkel & Wouters, 2014).

5.1.4 Gezondheidseffecten endotoxinen

Naargelang de manier waarop het menselijk lichaam in contact komt met endotoxinen, kunnen verschillende toxische effecten optreden. Deze zijn onder andere afhankelijk van de concentratie waaraan het lichaam wordt blootgesteld en de gevoeligheid van de persoon.

Systemische toxiciteit is het effect wanneer endotoxinen in **de bloedbaan** terechtkomen. Het is gekend dat zeer kleine hoeveelheden endotoxinen (1-4 ng/kg lichaamsgewicht) in de bloedbaan acute ontstekingsreacties kunnen veroorzaken die kunnen leiden tot ernstige gezondheidsstoornissen (Heederik et al., 2013).

Orale inname van endotoxinen veroorzaakt weinig schade bij gezonde personen en kan zelfs bepaalde ziekten voorkomen (Inagawa et al., 2011). Mensen worden via voeding constant blootgesteld aan grote hoeveelheden endotoxinen (1 ng/g - 1 µg/g voedsel). Bovendien zijn in de menselijke darm hoge hoeveelheden (Gramnegatieve) bacteriën en dus ook endotoxinen aanwezig. Deze constante blootstelling blijkt belangrijk voor het behoud van de immuunbalans (verstoring hiervan kan leiden tot allergieën) en voor bescherming tegen bacteriële darminfecties. Normaal gezien komen endotoxinen die oraal worden opgenomen niet in de bloedbaan terecht. Door bijvoorbeeld een defect aan de barrièrefunctie van de darmwand bij bepaalde darmziekten, kunnen endotoxinen uitzonderlijk wel in de bloedbaan terecht komen.

Blootstelling aan endotoxinen in veehouderijen gebeurt hoofdzakelijk via **inademing**, waardoor de endotoxinen in de luchtwegen terechtkomen. Het is onwaarschijnlijk dat endotoxinen via deze weg in de bloedbaan komen. Na inhalatie van endotoxinen kunnen er lokale effecten optreden in de longen en luchtwegen. Bij inademing van een hogere dosis bestaat de kans dat er ook systemische effecten (verspreid over verschillende orgaansystemen) kunnen optreden. Endotoxinen kunnen in de longen worden opgenomen via receptoren aan macrofagen⁷. Vervolgens kan dit via allerlei intercellulaire signalen leiden tot lokale ontstekingsreacties (Heederik et al., 2013). Deze ontstekingsreacties kunnen volgende acute effecten veroorzaken: koorts, rillingen, droge hoest, een beklemmend gevoel op de borst, ademnood, gewrichtspijn en griepachtige symptomen. Epidemiologische studies en studies met dierproeven suggereren dat chronische blootstelling aan endotoxinen kan leiden tot astma, dalende longfunctie en '*chronic obstructive pulmonary disease*' (COPD). COPD is de verzamelnaam voor de longaandoeningen chronische bronchitis en longemfyseem⁸ (Gezondheidsraad, 2010).

Verder is het bekend dat na enkele dagen blootstelling de effecten als gevolg van het inhaleren van endotoxinen verminderen. Er ontwikkelt zich in zekere mate een tolerantie maar deze verdwijnt ook vrij snel. Na een paar dagen zonder blootstelling aan endotoxinen kan opnieuw een daling in longfunctie vastgesteld worden op de eerst volgende dag van hernieuwde blootstelling (Gezondheidsraad, 2010).

⁷ Een macrofaag is een witte bloedcel die in staat is resten van dode of beschadigde lichaamseigen cellen te veranderen in intercellulair materiaal en lichaamsvreemde cellen en inerte deeltjes in zich op te nemen door middel van fagocytose.

⁸ Emfyseem is een toestand waarin de longen sterker uitgerekt zijn dan normaal terwijl de interne microstructuur ervan, in de vorm van de longblaasjes en de fijne tussenschotjes daartussen deels verloren is gegaan zonder dat er duidelijke longfibrose is opgetreden. Longfibrose is een chronische aandoening waarbij het longweefsel minder goed functioneert. De mogelijkheid om zuurstof op te nemen vermindert. Dit heeft als gevolg dat de betrokkene kortademig wordt, snel moe is en weinig energie heeft.

In recent onderzoek is aangetoond dat blootstelling aan endotoxinen mogelijk **bescherming** biedt tegen de ontwikkeling van atopie⁹ en hooikoorts (Winkel & Wouters, 2014). De blootstelling aan endotoxinen en het risico op kanker is eveneens onderzocht geweest in verschillende studies, waaronder een studie van Astrakianakis et al. (2007) bij textielarbeidsters in Shanghai. In deze studie wordt gesuggereerd dat het risico op longkanker afneemt, naarmate de blootstelling aan endotoxinen stijgt. In een onderzoek van Chen et al. (2017) over de endotoxineblootstelling in houtzagerijen werd een beschermend effect van endotoxineblootstelling en longkanker beschreven. Een meta-analyse¹⁰ van Xu et al. (2016) suggereert dat deze inverse respons ook aanwezig is in de landbouwsector.

5.1.5 Grenswaarden

Aangezien de blootstelling aan endotoxinen nadelige effecten kan veroorzaken, heeft de Nederlandse Gezondheidsraad een grenswaarde van **90 EU/m³** vastgesteld voor beroepsmatige blootstelling aan endotoxinen via de lucht (Gezondheidsraad, 2010). Deze waarde is gebaseerd op enerzijds een dosis-respons studie waarbij het effect op de longfunctie van acute blootstelling van vrijwilligers aan endotoxinen werd nagegaan (Castellan et al., 1987) en anderzijds twee studies waarbij het effect bij chronische blootstelling werd onderzocht (Smid et al., 1992; Post et al., 1998). De Nederlandse Gezondheidsraad heeft deze grenswaarde in 2012 bijgesteld tot **30 EU/m³** om extra gevoelige personen te beschermen (Gezondheidsraad, 2012). Meer informatie over de onderzoeken waarop deze grenswaarde is gebaseerd en enkele bedenkingen hierover worden beschreven in sectie 5.3.

⁹ Atopie is de aanleg van een persoon om bepaalde antistoffen te maken specifiek gericht tegen onschuldige stoffen die in de omgeving voorkomen, zoals huisstofmijt of pollen van gras of bomen. Als de atopie klinisch duidelijk wordt, spreekt men van een atopische aandoening. Astma, hooikoorts en constitutioneel eczeem zijn voorbeelden van atopische allergieën.

¹⁰ Een meta-analyse is een onderzoek waarbij de resultaten van eerder uitgevoerde onderzoeken samen worden genomen om een preciezere uitspraak te doen over een bepaalde theorie of fenomeen.

5.2 Endotoxineblootstelling in relatie tot de varkenshouderijen

De laatste jaren is de bezorgdheid omtrent risico's voor de gezondheid van omwonenden van veeteeltbedrijven sterk toegenomen. Er werden, vooral in Nederland, verschillende studies gepubliceerd waarbij getracht werd om de endotoxineconcentraties en mogelijk daarmee gecorreleerde gezondheidsrisico's in kaart te brengen. **De bestaande onderzoeken resulteerden vaak in tegenstrijdige conclusies, waardoor er heden onduidelijkheid bestaat over de relatie tussen veehouderijen en gezondheid.** In dit hoofdstuk wordt er een overzicht gegeven van de verschillende reeds uitgevoerde studies en wordt er getracht een besluit te vormen omtrent de endotoxineblootstelling in relatie tot de varkenshouderijen.

5.2.1 Bronnen van endotoxinen in varkenshouderijen

In deze literatuurstudie werd nagegaan van welke verschillende bronnen endotoxinen in varkenshouderijen afkomstig kunnen zijn. Er werden geen specifieke studies teruggevonden die de individuele bronnen van endotoxinen in varkenshouderijen beschrijven. Om deze reden worden in dit deel de verschillende bronnen van stof in varkenshouderijen beschreven (Winkel & Wouters, 2014).

Onderzoek heeft aangetoond dat in varkenshouderijen **mestdeeltjes** een zeer belangrijke bijdrage leveren tot het stof in de lucht. Na mest blijkt bij vleesvarkens en zeugen de grootste bijdrage afkomstig te zijn van **huidschilfers** van de varkens; bij biggen was deze bijdrage eerder gering. Bij alle soorten varkenshouderijen bleek dat het (meng)voer slechts een beperkte bijdrage heeft tot de stofdeeltjes in de lucht (Aarnink et al., 2011). Een beperkt aantal onderzoeken naar het aandeel van endotoxinen in deze fijnstofbronnen in veehouderijen is beschikbaar. Uit onderzoek van Zucker en Müller (2002) bleek dat de hoogste endotoxinegehalten worden teruggevonden in de mest en lagere gehalten in het voer. Het is niet bekend wat het gehalte aan endotoxinen is in huidschilfers afkomstig van varkens. Dit blijkt nochtans een belangrijke stofbron te zijn in varkenshouderijen.

Wanneer de bronnen in varkenshouderijen worden vergeleken met andere soorten veehouderijen blijken deze stofbronnen vrij goed overeen te komen. In pluimveehouderijen vormen de veren nog een belangrijke extra stofbron. Huidschilfers daarentegen dragen in pluimveehouderijen nauwelijks bij tot de hoeveelheid stof. In rundveehouderijen vormen stro en kuilvoer belangrijke stofbronnen (Winkel & Wouters, 2014).

5.2.2 Verspreiding

Endotoxinen zullen zich met het stof in de luchtstroom mee verspreiden doorheen de stal. Vervolgens zullen deze deeltjes zich met de ventilatielucht en/of via openingen in de stal naar de omgeving verspreiden. Wanneer de deeltjes in de buitenlucht terechtkomen, zijn er tal van factoren die de verspreiding van de deeltjes beïnvloeden (zie 5.2.4).

Zoals hierboven beschreven, komen endotoxinen voornamelijk voor op stofdeeltjes. Hierdoor wordt vaak aangenomen dat endotoxinen zich op een gelijkaardige manier verspreiden in het milieu. Men kan hier twee bedenkingen over maken, namelijk: (1) hoe zijn endotoxinen verdeeld over de verschillende fijnstof fracties en (2) speelt de stabiliteit van endotoxinen een rol?

Een **eerste bedenking** betreft de verdeling van endotoxinen over de verschillende fracties van fijnstof (zie 4.1). De endotoxinen verdelen zich ongelijkmatig over deze verschillende stoffracties. De meeste studies tonen aan dat het endotoxinegehalte in de grovere (>PM₁₀) deeltjesklassen van stof hoger is in vergelijking met de fijnere deeltjesklassen (Winkel & Wouters, 2014).

Er werden slechts enkele studies uitgevoerd waarbij het endotoxinegehalte in de verschillende fracties in de stallucht van varkens werd bepaald. In onderzoek van Ogink et al. (1997) werd in stallen van

vleesvarkens en zeugen het endotoxinegehalte in verschillende stoffracties bepaald. Echter, de resultaten werden hierbij uitgedrukt in EU per mg stof en kunnen niet gelinkt worden met de concentratie in EU/m³ lucht. Dit bemoeilijkt het maken van uitspraken omtrent de verdeling van de endotoxinen over de verschillende fracties aangezien de massa van het stof ook van belang is.

De resultaten van het onderzoek van Siggers et al. (2011) waarbij het endotoxinegehalte in verschillende stoffracties van twee varkenstallen werd geanalyseerd, werden zowel in EU/m³ en in EU per mg stof uitgedrukt. Hieruit bleek dat er geen correlatie was tussen beide. Algemeen bleek in de fijnere stofklassen de endotoxineconcentratie lager te zijn.

In andere soorten veehouderijen is het duidelijk dat de deeltjes kleiner dan ca. 2-3 µm slechts beperkt bijdragen tot de totale concentratie endotoxinen in stallucht (Hinz et al., 2006; Kirychuk et al., 2010). Er dient opgemerkt te worden dat het bij varkens maar om twee studies gaat in een beperkt aantal stallen. Recenter onderzoek van Ogink et al. (2016) bevestigt dit resultaat. Deze studie toonde aan dat bij verschillende soorten veehouderijen (vleesvarkens, leghennen en vleeskippen) de endotoxinen voornamelijk gelinkt zijn aan de grovere fijnstoffractie. De endotoxinegehalten zijn hoger in de 10-100 µm fractie dan in de PM10-fractie. Bovendien bevindt het merendeel van de stofmassa zich in de deeltjes groter dan 10 µm.

Aangezien endotoxinen zich voornamelijk hechten aan de grovere stoffractie, is het vermoedelijk niet correct om aan te nemen dat endotoxinen zich gelijkaardig verspreiden als stofdeeltjes. De grovere stoffractie slaat immers sneller neer, waardoor endotoxinen voornamelijk op een korte afstand van de stallen kunnen worden gemeten. Er werden reeds enkele studies uitgevoerd die de endotoxineconcentraties in functie van de afstand van de stal in kaart brachten. Deze studies worden toegelicht in het deel over de endotoxinen in de omgeving van varkenshouderijen (zie 5.2.3.2).

Een **tweede bedenking** die kan gemaakt worden waarom endotoxinen zich niet gelijkaardig als stofdeeltjes in het milieu verspreiden, betreft de stabiliteit van endotoxinen. Wat is bijvoorbeeld de invloed van de temperatuur en luchtvochtigheid op de stabiliteit van deze deeltjes? Er werden geen studies gevonden waarin het effect van deze parameters werd onderzocht na de emissie van endotoxinen uit varkensstallen.

Men kan besluiten dat er nog grote onduidelijkheid heerst omtrent de emissie van endotoxinen uit varkensstallen. Er werden nog maar enkele studies hierover uitgevoerd en data uit deze studies zijn zeer uiteenlopend. Bijkomend onderzoek is nodig om een eenduidig besluit te kunnen vormen over hoe endotoxinen zich verdelen in de stoffractie van varkenstallen, over welke afstand deze endotoxinen zich verspreiden en wat de invloed is van omgevingsparameters op de stabiliteit ervan.

5.2.3 Concentraties

Er zijn een tiental studies uitgevoerd die de concentratie van endotoxinen in en rondom varkenshouderijen weergeven. In deze paragraaf wordt een overzicht gegeven van deze verschillende onderzoeken. Hierbij worden zowel de concentraties in de stallen als de concentratie in de buitenlucht rond de stallen samengevat.

5.2.3.1 Endotoxineconcentratie in varkensstallen

In Tabel 3 wordt een overzicht gegeven van verschillende studies waarin de endotoxineconcentratie in stallen van varkenshouderijen werd bepaald. Zoals reeds eerder beschreven, kan de meetmethode variëren tussen verschillende studies (zie 5.1.3). Om deze reden werd er gekozen om het filtertype, de extractievloeistof, de opslag van het luchtmonster, de bemonsteringstijd en de methode voor de endotoxine-analyse weer te geven in de tabel. Verder wordt in de tabel ook de plaats van de studie, het aantal stalen en de bemonsterde fractie weergegeven.

Tabel 3: Overzicht van de studies waarin de endotoxineconcentratie in varkensstallen werd onderzocht.

Referentie	Plaats studie	Aantal stalen	Bemonsterde fractie(s)	Bemonsterings-methode	Extractie-vloeistof	Opslag luchtmonster	Bemonsterings-tijd	Endotoxine analyse methode	Endotoxine concentratie
Donham et al. (1989)	Zweden	57 werknemers in 30 varkenshouderijen	Totale en inhaleerbare fractie, zowel in de stalruimte als bij persoonlijke bemonstering	Low hygroscopic filters voor totale fractie en een cyclone preseparator voor inhaleerbare fractie Persoonlijke bemonsteringsapparatuur voor fijnstof	Niet gegeven	Niet gegeven	Niet gegeven	LAL-test	Gemiddelde concentratie in stalruimte: 180 ng/m ³ (~1800 EU/m ^{3*}) (totaal) en 170 ng/m ³ (~1700 EU/m ^{3*}) (inhaleerbaar); gemiddelde concentratie van persoonlijke bemonsteringsapparatuur: 230 ng/m ³ (~2300 EU/m ^{3*}) (inhaleerbaar) en 240 ng/m ³ (~2400 EU/m ^{3*}) (totaal)
Christensen et al. (1992)	Denemarken	26 veehouders	Totale en inhaleerbare fractie	Persoonlijke bemonsteringsapparatuur voor fijnstof	Niet gegeven	Niet gegeven	Gedurende 1 werkdag	LAL-test	64 ng/m ³ (~640 EU/m ^{3*}) in totaalstof en 5 (~50 EU/m ^{3*}) ng/m ³ in inhaleerbare fractie
Preller et al. (1995)	Nederland	198 varkenshouders	Inhaleerbare fractie	Persoonlijke bemonsteringsapparatuur met teflon filter	Niet gegeven	Niet gegeven	Gedurende 8 uur (1 dag in de zomer en 1 dag in de winter)	LAL-test	Gemiddelde 130 ng/m ³ (~1300 EU/m ^{3*}) en varieerde tussen 6 ng/m ³ (~60 EU/m ^{3*}) en 1503 ng/m ³ (~15030 EU/m ^{3*})
Chang et al. (2001)	Taiwan	115 monsternames in 30 verschillende veehouderijen die niet volledig afgesloten zijn.	Totale en inhaleerbare fractie	Monsternamen op 1,5 m hoogte van de vloer (totaal) en persoonlijke bemonsteringsapparatuur met polycarbonaat filter (respirabel)	TAP Buffer (0,05 M kaliumfosfaat, 0,01% triethylamine)	Bij 4 °C	6-8 uur	LAL-test	Totaal endotoxine: 36,8 - 298 EU/m ³ . Respirabele endotoxine: 14,1 - 129 EU/m ³
Coggins et al. (2007)	Ierland	5 varkenshouderijen	Inhaleerbare fractie	Persoonlijk bemonsteringsapparatuur met glasvezelfilter	10 ml steriel pyrogeenvrij water	Zowel bij 4 °C en bij 0 °C	Gedurende 1 werkdag	LAL-test	166 667 EU/m ³
Bønløkke et al.	Quebec	24 veehouders	Inhaleerbare fractie	Persoonlijke bemonsterings-	20 ml pyrogeenvrij	Bij -20 °C	6 uur (1 dag in de zomer en 1	LAL-test	Gemiddeld 6553 EU/m ³ tijdens de zomer en 25690 EU/m ³

Referentie	Plaats studie	Aantal stalen	Bemonsterde fractie(s)	Bemonsteringsmethode	Extractie-vloeistof	Opslag luchtmonster	Bemonsterings-tijd	Endotoxine analyse methode	Endotoxine concentratie
al. (2009)			fractie	apparatuur met glasvezelfilter	zoutoplossing met 0,02% Tween20		dag in de winter)		tijdens winter
O'Shaughnessy et al. (2010)	Westen Verenigde Staten	6 veelhouders in 2 verschillende varkenshouderijen	Inhaleerbare fractie	Persoonlijke bemonsteringsapparatuur met polyvinyl chloride filter	Steriel pyrogeen vrij water	Niet gegeven	Gedurende de werkdag tijdens zomer, winter en lente	LAL-test	500 EU/m ³ (zomer); 2500 EU/m ³ (winter); 1250 EU/m ³ (lente)
Aarnink et al., (2015)	Nederland	Niet gegeven	Totale fractie	Impinger	20 ml gebufferd peptone water	Maximum 24 u bij 4°C	Gedurende 20 min op 6 momenten per 24 u		Mediaanwaarden: 741 EU/m ³ (nacht) en 1202 EU/m ³ (dag)

* Om een vergelijking te maken tussen de verschillende endotoxineconcentraties werden de concentraties die in ng/m³ geconverteerd naar EU/m³ door gebruik te maken van de omzettingfactor (10 EU/ng endotoxinen) die door de Gezondheidsraad (2010) werd voorgesteld.

Het overzicht in Tabel 3 toont aan dat de endotoxineconcentraties in de stallen tussen verschillende studies sterk kunnen variëren. Er werd een minimale waarde gevonden van **14,1 EU/m³** (Chang et al., 2001) en een maximale waarde van **166 667 EU/m³** (Coggins et al., 2007) voor de inhaleerbare fractie.

In de studies naar de endotoxineblootstelling wordt vaak gebruik gemaakt van persoonlijke bemonsteringsapparatuur. De filter in deze bemonsteringsapparatuur verschilt echter wel vaak tussen de studies. Zoals hierboven reeds werd beschreven, kan het filtertype (sectie 5.1.3.2) een invloed hebben op de gemeten endotoxineconcentratie. In de onderzoeken van Christensen et al. (1992) en Donham et al. (1989) wordt er echter niet gespecificeerd welk filtertype er werd toegepast.

De extractievloeistof die wordt gebruikt om de endotoxinen in oplossing te brengen vertoont ook verschillen. In sectie (5.1.3.4) werd gesteld dat er momenteel geen consensus bestaat omtrent de invloed van de extractievloeistof op het resultaat van de meting.

De opslagtijd van het luchtmonster varieerde eveneens tussen de verschillende onderzoeken. Hierboven werd beschreven dat de gemeten endotoxineconcentratie in de meeste gevallen daalt naarmate het luchtmonster langere tijd wordt opgeslagen en wanneer de opslag gebeurt bij een temperatuur onder het vriespunt. In het onderzoek van Coggins et al. (2007) (Tabel 3) werd voorafgaand aan het eigenlijke onderzoek een welbepaald luchtmonster zowel bij 4°C als bij 0°C opgeslagen. De endotoxineconcentratie van het luchtmonster bij 0°C lag ongeveer 80% lager in vergelijking met de concentratie van het luchtmonster dat bij 4°C werd opgeslagen. Om deze reden werd er besloten om luchtmonsters tijdens het onderzoek op te slaan bij 4°C. Er werd in dit onderzoek geen verklaring voor dit fenomeen gegeven.

De bemonsteringstijd en de methode voor de endotoxineanalyse zijn voor de meeste studies gelijkaardig (Tabel 3). Er werd echter reeds eerder besproken dat het resultaat van de endotoxinemeting erg kan variëren tussen verschillende labo's. Factoren die een invloed kunnen hebben op de endotoxineconcentraties in de lucht en rondom stallen worden in sectie 5.2.4 besproken.

5.2.3.2 Endotoxinen in de omgeving van veehouderijen

Aangezien de laatste jaren de ongerustheid omtrent gezondheidsrisico's voor omwonenden van veehouderijen toeneemt, zijn er ook studies waarin de endotoxineconcentratie in de omgeving van veehouderijen werd geanalyseerd (Tabel 4). In deze paragraaf werden onderzoeken met verschillende soorten veehouderijen geselecteerd, aangezien het moeilijk is om een regio te selecteren waar enkel varkenshouderijen aanwezig zijn.

De endotoxineconcentraties in deze studies variëren tussen **0,04 EU/m³** (Maassen et al., 2016) en **194 EU/m³** (Thorne et al., 2009). Het merendeel van de endotoxineconcentraties die werden gemeten in deze studies liggen onder de grenswaarde van 30 EU/m³. Enkel in de studie van Thorne et al. (2009) werd er een hogere endotoxineconcentratie gemeten in de omgeving (op 30 m benedenwinds) van varkenshouderijen.

Tabel 4 toont dat er bij onderzoeken in de omgeving van varkenshouderijen eveneens verschillen waren in het filtertype, de extractievloeistof en de opslag van het luchtmonster. Deze verschillen kunnen een invloed hebben op de gemeten endotoxineconcentratie (sectie 5.1.3.2).

In het VGO onderzoek werden de endotoxineconcentraties bovenwinds (achtergrondconcentratie) en op verschillende afstanden benedenwinds gemeten. Dit onderzoek toonde aan dat op 50 m afstand van de varkenstallen de endotoxineconcentratie zich op hetzelfde niveau van de bovenwindse concentratie bevond. Voor veehouderijen met zeugen was dit al het geval op 25 m. Bij stallen van leghennen en vleeskuikens lagen de endotoxineconcentraties hoger dan 100 EU/m³ op deze afstanden (Maassen et al., 2016). Meer informatie over het VGO onderzoek staat beschreven in sectie 5.2.4.

Tabel 4: Overzicht van de studies waarin de endotoxineconcentratie rondom veehouderijen werd onderzocht

Referentie	Plaats	Aantal stalen	Bemonsterde fractie(s)	Filtertype	Extractievloeistof	Opslag luchtmonster	Bemonsterings-tijd	Endotoxine analyse methode	Endotoxineconcentratie
Schulze et al. (2006)	Nedersaksen: gebied met intensieve veeteelt	In 32 achtertuinen (afstand tot veehouderij niet gegeven)	Inhaleerbare fractie	Niet gegeven	Niet gegeven	Niet gegeven	24 uur	LAL-test	Gemiddelde endotoxineconcentratie varieerden tussen 2,0 EU/m ³ (winter) en 2,9 EU/m ³ (zomer).
Thorne et al. (2009)	Iowa: in omgeving van twee verschillende types varkenshouderijen: hoops ¹¹ en normaal type	30 stalen bij hoops type en 40 stalen bij normaal type	Inhaleerbare fractie	IOM samples met glasvezelfilters geplaatste op een hoogte van 2 m	Pyrogeenvrij water met 0,05% tweek	Niet gegeven	4 uur	LAL-test	Lager dan 10 EU/m ³ bovenwinds op 30m, 194 EU/m ³ en 59,5 EU/m ³ voor hoop en normaal type op 30 m benedenwinds, 30 EU/m ³ voor beide staltypes op 160 m benedenwinds
Pavilonis et al. (2013)	Iowa: In binnen- en buitenlucht (op 3 m afstand) van woningen in gebied met intensieve veeteelt	117 huishoudens	Endotoxinen in 10 - 2,5 nm fractie	polytetrafluoroet hyleen filters	10 ml pyrogeenvrij water	Niet gegeven	5 dagen	LAL-test	Gemiddelde binnenlucht concentratie: 0,32 EU/m ³ , gemiddelde buitenluchtconcentratie 1,93 EU/m ³
Maassen et al. (2016)	Nederland: in omgeving van intensieve veeteelt	61 locaties	Inhaleerbare fractie	Harvard impactor met teflon filter	Niet gegeven	Niet gegeven	5 uur	LAL-test	Minimale concentratie 0,04 EU/m ³ en maximale concentratie van 2,3 EU/m ³
de Rooij et al. (2017)	Nederland: in omgeving van pluimvee, varkens en rundveehouderijen	Op 8 locaties op 300 m van veehouderij	Endotoxinen in PM10 fractie	Harvard impactors op 2.5 m hoogte met teflon filters	5 ml pyrogeenvrij water met 0,05% tweek 20	24 uur bij -20°C	1 week	LAL-test	0,657 EU/m ³

¹¹ Hoops zijn grote tentachtige shelters die kunnen gebruikt worden als stalruimte voor varkens. Deze structuur is open naar de omgeving toe.

5.2.4 Nederlands Onderzoek: Veehouderij en gezondheid omwonenden (VGO-studie)

De aanleiding van deze literatuurstudie is het Nederlandse VGO onderzoek (Maassen et al., 2016 en Tabel 4). Daarom wordt het endotoxinegedeelte van dit onderzoek in deze paragraaf kort toegelicht. In het Nederlandse VGO onderzoek werden endotoxineconcentraties gemeten op verschillende niveaus, namelijk binnenin en rondom stallen (100 m bovenwinds en 25, 50 en 100 m benedenwinds) en op meetlocaties op woonniveau verspreid over het VGO-onderzoeksgebied. De studie vond plaats in het oostelijk deel van de provincie Noord-Brabant en het noordelijk deel van de provincie Limburg.

Voor de metingen binnenin en rondom de stallen werden twee vleeskuikenbedrijven, drie leghennenbedrijven, drie vleesvarkensbedrijven en één zeugen bedrijf geselecteerd. Deze bedrijfstypes werden gekozen omdat deze bedrijfstypes mogelijks de grootste uitstoot veroorzaken. Verder werden er ook criteria voor de bedrijven opgesteld: de afwezigheid van luchtwassers, afwezigheid van vrije uitloop van dieren, afwezigheid van andere veehouderijen in de nabije omgeving en afwezigheid van object en rondom het bedrijf die de buitenmetingen konden beïnvloeden. Het criterium dat er geen veehouderijen in de directe omgeving mogen zijn heeft gemaakt dat de gekozen bedrijven niet in het VGO-studie-gebied liggen. De metingen in de stal vonden plaats op enkele meters afstand van de uitlaat, dit is de plek waar de lucht de stal verlaat. De buitenmetingen vonden plaats op dagen zonder neerslag en bij een windsnelheid van 2 tot maximaal 4 Beaufort. De bemonsteringsapparatuur werd op een hoogte van 1,5 meter (inademingshoogte van de mens) opgesteld.

De endotoxinemetingen rondom de stallen lieten een duidelijk afstandspatroon zien, nl. lage concentraties bovenwinds, hoge concentraties in de stallen en een afname met de afstand benedenwinds. Er wordt opgemerkt dat er enkel bedrijven werden geselecteerd zonder luchtwassers. De meeste varkenshouderijen in Nederland beschikken echter over een luchtwasser. Zoals reeds in sectie 4.2 werd beschreven zorgt een luchtwasser voor de reductie van fijnstof. Aangezien endotoxinen zich mee verspreiden met fijnstof kan men hier de vraag stellen of de uitgevoerde metingen representatief zijn voor de varkenshouderijen in Nederland. Verder onderzoek is nodig om hier uitsluitsel over te geven. Verder dient er ook opgemerkt te worden dat het over een erg beperkt aantal metingen bij een beperkt aantal stallen gaat.

De gemeten endotoxineconcentraties van de meetlocaties op woonniveau verspreid over het VGO-onderzoeksgebied variëren van 0,04 tot 2,3 EU/m³. Gemiddeld bedroeg de endotoxineconcentratie op de meetlocaties op minder dan 250 m van de dichtstbijzijnde veehouderij 0,36 EU/m³. Deze concentraties liggen ongeveer een factor 10 lager dan deze gemeten op 100 m van de stallen. Dit wordt mogelijk verklaard omdat de metingen bij woningen jaarrond uitgevoerd werden onder alle weersomstandigheden, terwijl de metingen bij de bedrijven alleen tijdens ideale weeromstandigheden ten behoeve van de metingen (droog weer, bepaalde windsnelheid en bij hogere temperaturen) plaatsvonden. Ook zijn de metingen bij de bedrijven specifiek zo geplaatst dat ze op het moment van de meting benedenwinds van de stal, dus onder invloed van de stalemissie zijn.

Met de huidige beschikbare informatie uit het VGO onderzoek, die toch vrij beperkt is, is het niet mogelijk om het risico op effecten door blootstelling aan endotoxinebevattende stoffracties in te schatten. Bijkomend onderzoek is nodig om eventueel causaal verband aan te tonen tussen endotoxineconcentraties, al of niet gelinkt aan bepaalde stoffracties en hun zuiverheid, en het effect op de gezondheid van de mens.

5.2.5 Factoren die de endotoxineconcentratie beïnvloeden

Uit de literatuurstudie omtrent de endotoxineconcentraties in en rondom stallen van varkenshouderijen blijkt dat er grote verschillen zijn in gemeten concentraties tussen de verschillende onderzoeken (Tabel 3

en Tabel 4 Fout! Verwijzingsbron niet gevonden.). Er werd reeds besproken dat het gebruikte meetprotocol een invloed kan hebben op het eindresultaat. Er zijn echter ook talrijke factoren die een invloed kunnen hebben op de endotoxineconcentratie in de lucht en dus een mogelijke verklaring zijn waarom er zo een grote variaties optreden tussen de studies. Deze factoren worden in deze paragraaf kort toegelicht.

Een eerste belangrijke factor die de endotoxineconcentratie in de stal kan beïnvloeden, is het **seizoen** (Tabel 3). Bønløkke et al. (2009) onderzochten de seizoensvariatie van de endotoxineconcentratie in stallen van varkenshouderijen. Er werd een significant verschil gevonden tussen de endotoxineconcentratie in de winter en in de zomer. De gemiddelde endotoxineconcentratie was hoger in de winter (25 690 EU/m³) dan in de zomer (6 553 EU/m³). Dit effect is voornamelijk te wijten aan de lagere ventilatiedebieten in de stallen tijdens de winterperiode. In de winter is het kouder en wordt de snelheid van het ventilatiesysteem verlaagd waardoor het niet te koud wordt in de stallen. Hierdoor wordt er minder lucht ververst en zullen de componenten zich in de stal ophopen waardoor de endotoxineconcentratie stijgt (Basinas et al., 2015). Dit is in overeenstemming met het onderzoek van Preller et al. (1995), waarin ook een significant hogere endotoxineconcentratie in de stal werd vastgesteld in de winter in vergelijking met de zomer.

Het **vloertype** dat in de stal aanwezig is, heeft ook een belangrijke invloed op de endotoxineconcentratie. Preller et al. (1995) toonden aan dat het endotoxinegehalte in de stal lager is wanneer er een roostervloer in de varkensstal ligt. Een vaste vloer daarentegen zorgt dat er meer endotoxinen in de stallucht aanwezig zijn. Wanneer de dieren bewegen en de mest op de vaste vloer blijft liggen, kunnen de endotoxinedeeltjes afkomstig van de mest zich gaan verspreiden in de stallucht.

De endotoxineconcentratie die gemeten wordt in een stal hangt ook af van het **tijdstip** waarop de meting gebeurt. Onderzoek toonde namelijk aan dat de endotoxineconcentratie een duidelijk patroon vertoont binnen één dag. Het endotoxinegehalte in een stal is het hoogst overdag en lager tijdens de nacht. Deze hogere concentraties zijn gerelateerd aan de activiteit van de varkens; overdag zijn de dieren actiever dan 's nachts (Aarnink et al., 2015).

Het **aantal varkens** aanwezig in de stal heeft vermoedelijk ook een invloed op het endotoxinegehalte in de stallucht. Grotere veehouderijen zouden een hogere endotoxineconcentratie hebben in vergelijking met kleinere bedrijven. Voor varkens werd nog niet vastgesteld dat de endotoxineconcentratie toeneemt met het gewicht en de leeftijd van het dier. Dit effect werd momenteel enkel aangetoond voor vleeskuikens (Winkel & Wouters, 2014).

In bovenstaande onderzoeken (Tabel 3 en Tabel 4) werd meestal gebruik gemaakt van persoonlijke bemonsteringsapparatuur, meetapparatuur die de endotoxineconcentratie in de ademhalingszone van de werknemer meet. De endotoxineconcentratie die gemeten wordt, zal bepaald worden door de **plaats** waar de werknemer zich bevindt. Onderzoek van O'Shaughnessy et al. (2010) toonde aan dat er significante verschillen optreden tussen de endotoxineblootstelling en de taak die de werknemer uitvoert. Taken die bijvoorbeeld worden uitgevoerd nabij de dieren resulteerden in een hogere blootstelling aan endotoxinen.

De endotoxineconcentratie in de omgeving wordt eveneens beïnvloed door talrijke factoren. De lucht uit de stallen wordt via het ventilatiesysteem naar de omgeving gebracht. De **windrichting** zal bepalen naar welk gebied de endotoxinen zich verspreiden. De **windsnelheid** daarentegen zal mee bepalen over welke afstand de endotoxinen worden verspreid. De **terreinruwheid** zal een invloed uitoefenen op de depositiesnelheid. Wanneer er veel bebouwing en/of bossen in de omgeving aanwezig zijn, zullen de deeltjes hier tegenaan botsen en sneller neerslaan. Een open omgeving zal er daarentegen voor zorgen dat de deeltjes zich verder kunnen verspreiden zonder obstakels. De aanwezigheid van **andere veehouderijen en industrieën** is ook van belang (Winkel & Wouters, 2014).

5.2.6 Vergelijking varkenshouderijen met andere veehouderijen en industrieën

In dit deel worden de endotoxineconcentraties in varkenshouderijen vergeleken met andere soorten veehouderijen. Vervolgens wordt de concentratie in veehouderij vergeleken met andere sectoren.

Een studie in Beieren (Duitsland) onderzocht de endotoxineconcentratie in de stallen van moderne veehouderijen voor **melkvee**, **vleesvee**, **varkens**, **legkippen** en **kalkoenen** (Schierl et al., 2007). Dit onderzoek toonde aan dat de endotoxineconcentratie varieert tussen verschillende diersoorten. De mediaanwaarden van de endotoxineconcentraties bedroegen 16,9 EU/m³ voor melkvee; 557,9 voor EU/m³ voor vleesvee; 668,7 EU/m³ voor varkens; 463,2 EU/m³ voor legkippen en 1 902 EU/m³ voor kalkoenen. In de studie van Seedorf et al. (1998) werd de endotoxineconcentratie in verschillende veehouderijen (rundvee, varkens en pluimvee) in vier verschillende Europese landen (Engeland, Nederland, Denemarken en Duitsland) onderzocht. In deze studie werden de hoogste endotoxineconcentraties teruggevonden in pluimveehouderijen.

Deze vergelijking biedt echter maar een indicatie van de variaties tussen verschillende veehouderijen. Zoals reed in sectie 5.2.4 werd beschreven, kunnen er variaties optreden in het vloertype, het aantal dieren, tijdstip meting, etc., wat de vergelijking bemoeilijkt.

Andere sectoren kunnen eveneens endotoxinen uitstoten. In Tabel 5 worden de endotoxineconcentraties in andere industrieën opgelijst.

Tabel 5: Overzicht endotoxineconcentraties in andere sectoren.

Sector	Min. endotoxineconcentratie (EU/m ³)	Max. endotoxineconcentratie (EU/m ³)	Referentie
Serre (tomaten)	5,4	4002	Spaan et al. (2006)
Compostering en verhandeling ervan	14	191 430	Spaan et al. (2006)
Graanindustrie (alle activiteiten)	3	600 000	Halstensen et al. (2007)
Verwerking aardappelen	0,91	1 578 250	Dutkiewicz et al. (2002)
Afvalwaterzuivering	< LOQ	2090	Smit et al. (2005)
Afvalcompostering	0,1	15 000 000	Duquenne et al. (2012)
Houtzagerij	0.4	4915	Gioffrè et al. (2012)
Katoenindustrie	2	69 360	Paudyal et al. (2011)
Biofuelindustrie	<50	119 000	Madsen et al. (2006)
Papierindustrie	42	25 000	Prazmo et al. (2003)

Uit Tabel 5 blijkt dat niet enkel in veehouderijen werknemers aan hoge endotoxineconcentraties kunnen worden blootgesteld. In andere sectoren werden ook hoge endotoxineconcentraties gemeten. De maximale endotoxineconcentratie in een varkenshouderij die in deze literatuurstudie werd teruggevonden bedraagt 166 667 EU/m³ (Tabel 3). In een afvalcomposteringsbedrijf werd een maximale concentratie gemeten die 90 maal hoger (Tabel 5). Bijgevolg kan gesteld worden dat werknemers van zeer uiteenlopende sectoren waar veel organisch materiaal aanwezig is, eveneens worden blootgesteld aan hoge endotoxineconcentraties.

5.2.7 Mogelijke gezondheidseffecten van endotoxineblootstelling in relatie tot varkenshouderij

In sectie 5.1.4 werd er reeds beschreven wat de mogelijke effecten kunnen zijn van de blootstelling aan endotoxinen. De laatste jaren zijn er echter ook verschillende onderzoeken die specifiek het effect van de blootstelling aan endotoxinen voor werknemers en omwonenden van varkenshouderijen beschrijven. In deze paragraaf wordt een overzicht van deze studies weergegeven.

‘Forced expiratory volume in 1 second’ (FEV₁) en **‘forced vital capacity’ (FVC)** zijn twee parameters die worden gebruikt om het effect op de longen te beschrijven bij de blootstelling aan endotoxinen. FEV₁ is de maximale hoeveelheid lucht die met kracht kan worden uitgeademd binnen één seconde na diepe inademing. FVC is de totale hoeveelheid lucht die met kracht kan worden uitgeademd na een diepe inademing. Beide parameters worden uitgedrukt in liter (Gezondheidsraad, 2010).

5.2.7.1 Negatieve effecten

In een Zweeds onderzoek werd een relatie gevonden tussen de endotoxineblootstelling en een **daling in FEV₁** bij niet-rokende medewerkers in een varkenshouderij. Het NOEL werd in deze studie op ongeveer 1800 EU/m³ geschat (Donham et al., 1989). Dit is in overeenstemming met het onderzoek van Vogelzang et al. (1998). Deze drie jaar durende opvolgstudie die werd uitgevoerd bij 171 medewerkers in varkenshouderijen toonde aan dat de jaarlijkse daling in FEV₁ en FVC significant geassocieerd was met de endotoxineblootstelling. De gemiddelde endotoxineconcentratie waaraan de werknemers werden blootgesteld, bedroeg 105 ng/m³ (~1050 EU/m³). In een vijf jaar durende studie in Saskatchewan (Canada) bleek het endotoxinegehalte in de stal een significante voorspeller voor de jaarlijkse verandering in FEV₁ bij werknemers, maar dit was niet het geval voor FVC (Kirychuk, 1998). In de studie van Bønløkke et al. (2009) werden er echter zeer milde negatieve gezondheidseffecten gevonden voor werknemers die voortdurend blootgesteld worden aan endotoxinen ondanks de hoge blootstellingswaarden. De gemiddelde endotoxineconcentratie bedroeg 6553 EU/m³ tijdens de zomerperiode en 25 690 EU/m³ tijdens de winterperiode. De onderzoekers vonden geen verschil in longfunctie voor werknemers. Wanneer echter de werknemers die minder werden blootgesteld aan endotoxinen tijdens het werk uit de dataset werden gehaald, werd er wel een daling in de longfunctie gevonden.

5.2.7.2 Positieve effecten

Er zijn ook studies die aantonen dat er mogelijk positieve effecten gekoppeld zijn aan de endotoxineblootstelling.

In Noorwegen werden 8482 veehouders tijdens de winter van 1991 onderzocht aan de hand van spirometrische¹² testen, collectie van bloedstalen en vragenlijsten. Uit dit onderzoek bleek dat de blootstelling aan endotoxinen een positief effect heeft op atopische astma, maar dat de mogelijkheid bestaat dat niet-atopische astma wordt ontwikkeld (Eduard, 2004). Dit is in overeenstemming met een Nederlandse studie die de gezondheidseffecten van de endotoxineblootstelling onderzocht bij 427 veehouders. Er werden **minder allergieën** (hooikoorts en huisstofmijt allergie) en atopie waargenomen bij de werknemers. De resultaten toonden echter ook aan dat er een statistisch significant positief verband was tussen de endotoxineblootstelling en bronchiale hyperreactiviteit en een piepende ademhaling. De endotoxineconcentratie waaraan de veehouders werden blootgesteld, varieerde tussen 10 en 10 000 EU/m³, met een geometrisch gemiddelde van 319 EU/m³ (Smit et al., 2010).

In een recente longitudinale studie (vijf jaar) van Spierenburg et al. (2017) werd de gezondheid en de endotoxineblootstelling bij 234 veehouders (afkomstig van rundvee-, varkens-, kippen-, - en geitenveehouderijen) en landarbeiders (afkomstig van fruit-, groeten- en graanboerderijen) onderzocht. In dit onderzoek werd de endotoxineblootstelling geassocieerd met een beschermend effect op atopie en hooikoorts. Verder werden er geen negatieve effecten op de longfunctie door de blootstelling aan endotoxinen gevonden.

Verder is een hogere blootstelling aan endotoxinen in verband gebracht met een **beschermend effect tegen longkanker**. In de studie van Lenters et al. (2010) werd door middel van meta-analyse nagegaan of er een verband was tussen de endotoxineblootstelling en het risico op longkanker bij veehouders. Uit deze studie bleek dat blootstelling aan endotoxinen een beschermende werking kan hebben tegen longkanker (Lenters et al., 2010). Dit verband werd ook terug gevonden in de *‘Investigation of occupational and*

¹² Spirometrie is een medisch onderzoek dat de functie van de longen meet.

environmental causes of respiratory cancers' (ICARE) studie in Frankrijk. In deze studie werd deze relatie bij 2926 patiënten met longkanker en 3555 mensen in een controlegroep onderzocht. Een verlaging van het risico op longkanker werd waargenomen bij de volgende sectoren: vleesveehouderijen, rundveehouderijen, pluimveehouderijen, varkenshouderijen en afvalophaling- en verwerking. In andere sectoren werd er geen statistisch verband gevonden (Khedher et al., 2017).

5.2.7.3 Effecten voor omwonenden

De emissies afkomstig van veehouderijen verspreiden zich in het milieu. Wanneer er woningen in de buurt van deze veehouderijen gevestigd zijn, kunnen de bewoners mogelijk blootgesteld worden aan deze emissies. De endotoxineconcentratie waaraan omwonenden worden blootgesteld, zijn beduidend lager in vergelijking met de werknemers van veehouderijen aangezien er verdunning (zie sectie 5.2.3.2) optreedt in het milieu door bijvoorbeeld wind en depositie van endotoxinen. Er werden verschillende studies uitgevoerd waarin het effect van de endotoxineblootstelling op omwonenden werd bestudeerd.

In een Nederlandse studie werd onderzocht of er een verband was tussen emissies van veehouderijen en astma, allergische rhinitis en COPD bij omwonenden (Smit et al., 2014). De medische informatie van 92 548 omwonenden uit 27 dokterspraktijken in een omgeving met intensieve veehouderijen werd geanalyseerd. In deze studie werden de endotoxineconcentraties in de woningen van de studiepopulatie bepaald (493 woningen) alsook op vijf verschillende buitenlocaties in het studiegebied. De gemiddelde endotoxineconcentratie bedroeg 1873 EU/m². Er dient hier opgemerkt te worden dat deze concentratie in een andere eenheid staat (EU/m² bemonsteringsoppervlakte die gedurende 14 dagen werd blootgesteld aan de lucht). Het is niet duidelijk hoe deze kan worden omgezet naar de standaard eenheid voor endotoxineconcentratie in de lucht (EU/m³ lucht). Uit deze studie bleek dat luchtverontreiniging afkomstig van veehouderijen geassocieerd was met minder voorkomen van astma, allergische rhinitis en COPD. Er werd geen verband gevonden tussen veehouderijblootstellingsvariabelen en het endotoxinegehalte in de woningen van de omwonenden (Smit et al., 2014). Hierdoor is het verband tussen de positieve effecten voor omwonenden en de endotoxineblootstelling in deze studie onduidelijk.

Een studie in North-Carolina onderzocht bij gezonde mensen de effecten ten gevolge van blootstelling aan lucht afkomstig van varkensveehouderijen (Schiffman et al., 2005). Hiervoor werd er een blootstellingskamer ingericht waar de psychologische en fysische effecten door blootstelling aan emissies van varkenshouderijen konden getest worden. De blootstellingskamer werd geconstrueerd naast een varkenshouderij en de geëmitteerde lucht werd vervolgens verdund naar de blootstellingskamer gestuurd. De lucht werd verdund tot het niveau dat zou kunnen voorkomen benedenwinds van de varkenshouderij. De endotoxineconcentratie in de verdunde lucht bedroeg 7,4 EU/m³. Gedurende één uur werden 48 gezonde proefpersonen blootgesteld aan de verdunde lucht afkomstig van de varkenshouderij en één uur aan zuivere lucht. Er trad geen significant verschil op tussen de longfunctie, voorkomen van nasale ontstekingen, gemoed en het geheugen van proefpersonen bij zuivere lucht en bij de verdunde varkenslucht. Wel werd meer hoofdpijn, irritatie aan de ogen en misselijkheid gerapporteerd bij blootstelling aan varkenslucht. Het onderliggende mechanisme hiervoor werd niet achterhaald, maar het is onwaarschijnlijk dat deze effecten te wijten zijn aan één enkele component (Schiffman et al., 2005). Er dient opgemerkt te worden dat de concentratie in deze studie lager lag dan de endotoxinegrenswaarde (30 EU/m³). Deze studie toont echter wel aan dat bij een lagere blootstelling, zoals het geval is bij omwonenden van veehouderijen, er vermoedelijk geen gezondheidseffecten optreden. De blootstellingsduur bedroeg slechts één uur, wat zeer kort is. Daarom zal verder onderzoek met een langere blootstellingsduur en bij herhaaldelijke blootstelling nodig zijn om de bevindingen uit deze studie te bevestigen.

De studie van Borlée et al. (2013) onderzocht ook het effect van emissies van veehouderijen op de gezondheid van omwonenden. In deze studie werd ook gekeken naar het effect op gevoelige bevolkingsgroepen, met name mensen die reeds een aandoening aan de longen hadden. De studie werd uitgevoerd bij personen die in het oosten van de provincie Noord-Brabant woonden. Uit dit onderzoek

bleek dat er een omgekeerde relatie bestaat tussen de afstand van een veehouderij en het voorkomen van astma, COPD en allergische rhinitis bij omwonenden. Dit resultaat suggereert dus dat er een beschermend effect bestaat van een veehouderij op het ademhalingsstelsel. Niezen en het gebruik van inhalatiecorticosteroïden (basisbehandeling van astma) bij COPD-patiënten was positief geassocieerd met emissies van veehouderijen. Dit kan erop wijzen dat er een hoger risico bestaat op exacerbaties¹³ bij COPD-patiënten die in de omgeving van veehouderijen wonen (Borlée et al., 2013). Er dient opgemerkt te worden dat in deze studie de endotoxinen niet specifiek gemeten werden. De verbanden uit deze studie zijn gebaseerd op vragenlijsten, medische dossiers en karakteristieken van veehouderijen (aantal en soort dieren, coördinaten en geschatte jaarlijkse fijnstofemissies) afkomstig van databanken. Er is bijkomend onderzoek nodig om te bepalen welke effecten precies afkomstig zijn van endotoxineblootstelling.

In North-Carolina werd er onderzocht of er een relatie is tussen de emissies van varkenshouderijen en het voorkomen van gezondheidseffecten bij omwonenden in een straal van 2,4 km. Tijdens de periode van september 2003 tot september 2005 werden er verschillende componenten (waterstofsulfide, endotoxine en fijnstof) gemeten gedurende twee weken in 16 verschillende gemeenten. De 101 proefpersonen die deelnamen aan deze studie zaten gedurende 10 minuten buiten en rapporteerden over de geur, fysische symptomen en hun longfunctie werd gemeten. Uit deze studie bleek dat wonen in de buurt van een varkensveehouderij effecten kan veroorzaken aan de bovenste luchtwegen en irritaties aan de neus en luchtwegen (Schinasi et al., 2011). De relevantie van deze studie kan in vraag worden gesteld aangezien 10 minuten een zeer korte blootstellingstijd is. Verder onderzoek is nodig om na te gaan of deze gezondheidseffecten wel degelijk gelinkt zijn aan de emissies van de varkenshouderijen.

In een Nederlandse studie van van Dijk et al. (2017) werden de algemene gezondheidsrisico's bestudeerd in relatie tot omwonenden van veehouderijen. In dit onderzoek werd een verhoging van het risico in de onderste luchtwegen (longontsteking) vastgesteld terwijl er eerder een positief effect waargenomen werd op de bovenste luchtwegen. Echter, door de link van endotoxinen met de grovere stoffracties kan worden verondersteld dat ze bij inademing vooral in de bovenste luchtwegen (neus- en keelholte) zouden terecht komen en dat eventuele gezondheidseffecten zich daar preferentieel zouden situeren. Het lijkt bijgevolg weinig waarschijnlijk dat deze verhoging toe te wijzen zou zijn aan louter de endotoxinefractie.

Uit dit hoofdstuk blijkt dat er al veel, weliswaar fragmentarische kennis bestaat omtrent de effecten van blootstelling aan endotoxinen via lucht op de gezondheid van omwonenden. Er wordt echter wel vaak de nadruk gelegd op de negatieve effecten, daar waar bepaalde studies ook uitwijzen dat er positieve effecten (beschermend effect atopie en astma en longkanker) verbonden zijn aan de blootstelling aan endotoxinen. Over de globale gezondheidseffecten bij omwonenden van veehouderijen bestaat nog een grote onduidelijkheid. In sommige studies is de blootstellingsduur zeer kort en bij andere studies werden de werkelijke endotoxineconcentraties in de omgeving niet gemeten. Men kan besluiten dat er bijkomend onderzoek nodig is om de gezondheidseffecten door de blootstelling aan endotoxinen bij omwonenden te bepalen.

5.3 Advieswaarde en toetsingskader endotoxinen

5.3.1 Advieswaarde endotoxine van 90 EU/m³ en 30 EU/m³

Doorheen de jaren werden er verschillende advieswaarden voor de blootstelling aan endotoxinen ingevoerd. Rylander et al. (1997) suggereerden een NOEL van ongeveer 10 ng/m³ (~100 EU/m³). Bij blootstelling aan concentraties lager dan deze advieswaarde zouden er volgens Rylander et al. (1997) geen ontstekingen aan de luchtwegen optreden. Verder werd er ook een advieswaarde van 100 ng/m³ (~1000 EU/m³) vastgelegd om systemische effecten ten gevolge van endotoxineblootstelling te vermijden. Het voorkomen van 'Organic Dust Toxic Syndrome' (ODTS) symptomen zou volgens Rylander et al. vermeden

¹³ Exacerbatie is een medische term voor toename van ziektesymptomen. Deze term wordt gebruikt voor chronische aandoeningen die een wisselende mate van activiteit vertonen. Er wordt van exacerbatie gesproken als de ziekte nog meer actief wordt, na een tijdlang weinig of geen activiteit te hebben vertoond.

worden bij blootstelling onder een concentratie van **200 ng/m³** (~2000 EU/m³). Heederik en Douwes (1998) stelden een grenswaarde van **50 EU/m³** voor een beroepsmatige blootstelling vast. Deze grenswaarde was voornamelijk gebaseerd op de studie van Castellan et al. (1987) waarbij een NOEL van **90 EU/m³** werd gesuggereerd. Na invoering van extrapolatiefactoren voor verschillen in blootstellingstijd en gevoeligheid tussen personen werd een *'health based recommended occupational exposure limit'* (HBROEL) van 50 EU/m³ bekomen (Spaan, 2009). Het Nederlands ministerie van sociale zaken concludeerde dat dergelijke invoering op korte termijn zou resulteren in grote financiële en technische problemen bij de betrokken sectoren. Daarom werd deze grenswaarde in 2001 verhoogd tot **200 EU/m³** (Spaan, 2009).

In 2010 werd er door de Nederlandse Gezondheidsraad een rapport gepubliceerd waarin een grenswaarde van **90 EU/m³** wordt geadviseerd (Gezondheidsraad, 2010). De Gezondheidsraad besloot het volgende:

“Op basis van een studie naar de effecten van 6 uur blootstelling aan endotoxinen in vrijwilligers die geselecteerd werden op basis van gevoeligheid voor endotoxinen, wordt een NOEL van 90 EU/m³ vastgesteld. Een extrapolatiefactor om rekening te houden met individuele gevoeligheid wordt niet nodig geacht. Op basis van een cross-sectionele studie in de diervoederindustrie waarbij rekening gehouden wordt met een blootstelling van 40 jaar aan de limiet van 90 EU/m³, beschermt deze limiet eveneens tegen de effecten van langdurig blootstelling aan endotoxines. Daarom stelt de Commissie Gezondheid en Beroepsmatige Blootstelling aan Stoffen (GBBS) vast dat een gezondheidkundige advieswaarde voor endotoxines van 90 EU/m³ (8 uur tijd gewogen gemiddelde) zowel tegen de effecten van acute, kortdurende als langdurige blootstelling beschermt.”

De Nederlandse Gezondheidsraad baseerde dit besluit op de volgende studies:

- Een studie van Castellan et al. (1987). In deze studie werden gezonde vrijwilligers 6 uur blootgesteld aan katoenstof met endotoxinen. De effecten van endotoxinen op de longfunctie werden gemeten.
- Een cross-sectionele studie van Smid et al. (1992) naar chronische effecten op de longfunctie van werknemers die werden blootgesteld aan stof van mengvoeder.
- Een studie van Post et al. (1998) die de chronische effecten onderzocht in een 5 jaar follow-up studie in de mengvoeder-industrie.

In de studie van Castellan et al. (1987) werden gezonde vrijwilligers geselecteerd, zowel rokende als niet-rokende personen. Deze personen werden vooraf blootgesteld aan 100 ng/m³ LPS. Personen die minstens een 5% daling in FEV₁ (en niet meer dan 30%) vertoonden, werden voor verdere studies geselecteerd. Uiteindelijk bleven er nog 33 proefpersonen over, waarvan 16 rokers. Er vonden 108 verschillende blootstellingsproeven plaats waarbij de proefpersonen gedurende zes uur werden blootgesteld aan een endotoxineconcentratie, afkomstig van katoenstof, die varieerde tussen 6 en 779 ng/m³ (60 - 7790 EU/m³). In deze studie werd een NOEL van 9 ng/m³ (90 EU/m³) gesuggereerd.

Vervolgens onderzocht de Nederlands Gezondheidsraad of deze advieswaarde van Castellan et al. (1987) ook bescherming biedt tegen de chronische effecten van endotoxineblootstelling. De beschikbare epidemiologische data laten niet toe om een niveau te bepalen waarbij er geen daling in FEV₁ optreedt, zoals in de studie van Castellan et al. (1987) werd gedaan. Daarom heeft de Nederlandse Gezondheidsraad voor een andere aanpak gekozen. De Gezondheidsraad berekende de vermindering in FEV₁ na 40 jaar blootstelling aan een endotoxineconcentratie van 90 EU/m³ door gebruik te maken van de resultaten van de studies van Smid et al. (1992) en Post et al. (1998).

In het onderzoek van Smid et al. (1992) werden de effecten door de blootstelling aan endotoxinen onderzocht bij 315 werknemers van 14 diervoederfabrieken in Nederland. De studie van Post et al. (1998) was een vervolgstudie hierop. Uit deze studies bleek een bijkomende FEV₁ daling van 120 ml na 40 jaar blootstelling. Vervolgens moest de Nederlandse Gezondheidsraad bepalen of een vermindering van 120 ml een nadelig effect voor de mens heeft of niet. Hiervoor baseerde de Nederlandse Gezondheidsraad zich op

de studie van Sin et al. (2005). Deze studie toonde aan dat een daling van 120 ml in FEV₁ niet statistisch significant geassocieerd is met cardiovasculaire effecten. Hieruit besloot de Nederlandse Gezondheidsraad dat een bijkomende vermindering van 120 ml in FEV₁ geen nadelig effect heeft. De Gezondheidsraad stelde dus dat de grenswaarde van 90 EU/m³ ook de werknemers beschermt tegen een langdurige endotoxineblootstelling.

In het rapport van 2012 van de Gezondheidsraad wordt een extra veiligheidsfactor van drie ingevoerd voor omwonenden van veehouderijen om extra gevoelige personen, eventueel gevoeliger dan de werknemers die deelnamen aan de studies hierboven vermeld, te beschermen. Zo bekomt men een advieswaarde van 30 EU/m³ voor de algemene bevolking (Gezondheidsraad, 2012).

Op 14 februari 2018 publiceerde de Gezondheidsraad haar advies over het vorig jaar uitgebrachte VGO rapport. In dit **advies** staat beschreven dat recente onderzoeksgegevens de eerdere bevindingen bevestigen. Mensen die in de buurt van veehouderijen wonen hebben vaker een verminderde longfunctie en een verhoogd risico op longontsteking. Maar het is nog steeds niet duidelijk of er sprake is van een oorzakelijk verband. Hoewel niet kan worden aangetoond wat de luchtwegeneffecten rond de veehouderijen veroorzaakt, stelt de Gezondheidsraad dat het zinvol is om maatregelen te treffen.

Aangezien uit onderzoek in stedelijke omgevingen blijkt dat fijnstof waarschijnlijk effecten veroorzaakt op luchtwegen en longen, adviseert De Gezondheidsraad om zich te richten op het verminderen van fijnstof uit veehouderijbedrijven. Verder adviseert de Gezondheidsraad om de uitstoot van ammoniak afkomstig van veehouderijen te verminderen, omdat ammoniak bijdraagt aan de vorming van fijnstof (zie sectie 3.3) (Gezondheidsraad, 2018).

Het effect van een acute piekdosis aan zuivere endotoxine-oplossing (zonder stofdeeltjes) op de longcapaciteit van testpersonen werd in de literatuur beschreven. Michel et al. (1989) vergeleken acute blootstelling aan endotoxinen bij astmatische versus niet-astmatische personen, en stelde een gering maar significant effect vast bij de astmatische personen bij blootstelling aan 22,2 µg, terwijl er bij 2,2 µg (2200 ng) geen effect werd waargenomen. Bij de niet-astmatische personen werd geen effect waargenomen. In de studie van Kline et al. (1999), waarin enkel niet-astmatische personen werden getest, werd een groot verschil in de gevoeligheid van de testpersonen vastgesteld. In de voorgestelde experimenten werd bij de meest gevoelige personen een reactie waargenomen vanaf een blootstelling aan 1,5 µg endotoxinen; geen enkele persoon reageerde op een dosis van 0,5 µg of 500 ng. Blootstelling aan 2200 ng en 500 ng pure endotoxinen zou overeenkomen met ongeveer 22.000 en 5.000 EU. Dit is ver boven de grenswaarden van 90 of 30 EU/m³ (90 EU/m³ komt overeen met een blootstelling aan een dosis van ongeveer 190 EU in 6 uur tijd (acute blootstelling) voor een volwassen persoon) die werden vastgesteld op basis van de studies waar de endotoxines gebonden op stofdeeltjes (Castellan et al., 1987). Door de link van de endotoxinen met de grovere stoffracties (zie 4.2.2.) kan worden verondersteld dat ze bij inademing vooral in de bovenste luchtwegen (neus- en keelholte) zouden terecht komen (zie 3.1) en dat de eventuele gezondheidseffecten zich daar preferentieel zouden situeren. Echter in de studie uit Nederland waar de algemene gezondheidsrisico's werden bestudeerd in relatie tot omwonenden van de veehouderij (van Dijk et al., 2017) werd een mogelijke verhoging van het risico in de onderste luchtwegen (longontsteking) vastgesteld terwijl er eerder een positief effect waargenomen werd op de bovenste luchtwegen. Het lijkt bijgevolg weinig waarschijnlijk dat deze verhoging toe te wijzen zou zijn aan louter de endotoxinefractie.

5.3.2 Toetsingskader en verspreidingsmodel

De Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu heeft aangegeven de grenswaarde van 30 EU/m³ te willen gaan gebruiken bij vergunningverlening van veehouderijen. Om dit te kunnen doen moet er een toetsingskader beschikbaar zijn. Binnen dit kader wordt de verwachte blootstelling in kaart gebracht en kan getoetst worden aan de advieswaarde. Wageningen UR Livestock Research (WLR) en het IRAS instituut

van de Universiteit Utrecht (IRAS) instituut van de Universiteit Utrecht (IRAS) hebben in 2014 de bestaande kennis over endotoxine-uitstoot in een literatuurstudie samengevat (Winkel & Wouters, 2014). Er konden geen harde uitspraken worden gedaan, maar de onderzoekers stelden dat de toetsingskaders voor fijnstof en geur mogelijk onvoldoende bescherming bieden tegen de blootstelling aan endotoxinen. De onderzoekers concludeerden toen dat de kennis op dat moment onvoldoende was om een toetsingskader te ontwikkelen en stelden dat er bijkomend onderzoek naar de uitstoot en verspreiding van endotoxinen diende te gebeuren. Als vervolg opdracht werd er een studie uit gevoerd door Ognik et al. (2016).

In een eerste deel van deze studie werden metingen verricht van stof en endotoxinen in het stof bij twee stallen voor leghennen, twee stallen voor vleeskuikens en twee stallen voor vleesvarkens. Op basis van deze metingen werden in het tweede deel van het onderzoek de endotoxineconcentraties in de omgeving van een aantal fictieve stallen berekend. Voor deze fictieve stalen werd de afstand ingeschat tot waar overschrijding van de grenswaarde plaatsvindt. De onderzoekers concludeerden de volgende zaken:

- Het volstaat niet om met een constant endotoxinegehalte in alle stofdeeltjes te werken. Aangezien het endotoxinegehalte in het stof varieert met diercategorieën en toe neemt met de deeltjesgrootte is er een onderscheid nodig naar diercategorie en deeltjesgrootteklasse.
- De huidige toetsingskaders voor fijnstof en geur zijn bij pluimveebedrijven (vleeskuikens en leghennen) niet voldoende beschermend tegen het overschrijden van de endotoxinegrenswaarde (30 EU/m³). Hier dient het endotoxine toetsingskader worden uitgewerkt om te voldoen aan het gewenste beschermingsniveau.
- In het geval van vleesvarkensbedrijven tonen de berekeningen aan dat het toetsingskader voor geur voldoende beschermend werkt. Het is belangrijk hierbij op te merken dat dit anders kan uitvallen wanneer andere veehouderijen in de omgeving in rekening worden gebracht.
- Er zijn geen scenario's doorgerekend waarbij het effect van meerdere veehouderijen in een relatief klein gebied (cumulatie) wordt nagegaan. In een aantal gebieden in Nederland zijn er huizen met meerdere stallen binnen een afstand van 250 m. Hierdoor kunnen verschillende veehouderijen een overschrijding van de endotoxinen grenswaarde van 30 EU/m³ veroorzaken.

De studie heeft ook enkele aanbevelingen geformuleerd voor de ontwikkeling van het toetsingskader voor endotoxinen:

- De endotoxine-emissies zullen berekend worden aan de hand van een verspreidingsmodel. Voor het goed onderbouwen hiervan zijn aanvullende metingen nodig om de variatie tussen verschillende diercategorieën te bepalen.
- Er dient nader onderzoek te gebeuren naar de cumulatieve belasting door cluster van bedrijven.
- Er is meer kennis nodig over de gezondheidssimpact van endotoxineblootstelling voor de keuze van de te hanteren percentielwaarde.

6 Besluit en aanbevelingen

In dit rapport werden de belangrijkste soorten emissies afkomstig van varkenshouderijen besproken, namelijk ammoniak, fijnstof en endotoxinen. De nadruk werd hier vooral op de endotoxine-emissies gelegd, aangezien omtrent deze deeltjes nog een grote onwetendheid heerst. De bedoeling van deze literatuurstudie was om de huidige kennis omtrent de relatie tussen varkenshouderijen en gezondheid van omwonenden weer te geven.

De grootste ammoniakbron in Nederland is de landbouw. Binnen de landbouwsector blijkt dat rundvee de belangrijkste ammoniakemissiebron is (55% van de totale ammoniak emissie van de landbouwsector), de varkenshouderijen zijn verantwoordelijk voor 20% van de totale ammoniakemissies. In de periode van 1990 tot 2015 zijn ammoniakemissies door land- en tuinbouw met 65% afgenomen. Een rechtstreeks effect van ammoniakconcentraties in de buurt van veeteeltbedrijven op omwonenden lijkt niet aan de orde, aangezien de maximale ammoniakconcentraties voor Nederland op de meeste plaatsen ongeveer 10 maal lager liggen dan de concentraties die bij chronische blootstelling tot negatieve effecten kunnen leiden bij gevoelige personen. Deze conclusie is echter enkel geldig indien er geen interacties optreden met andere vervuilende verbindingen. Het is voortsnog onduidelijk of het fenomeen van interactie kan optreden bij omwonenden van veehouderijen. Het is dan ook raadzaam om dit verder te onderzoeken.

De chemische stoffen die reageren met ammoniak met vorming van secundair fijnstof worden voornamelijk uitgestoten door niet-landbouwbronnen. Het gaat hierbij om een algemene problematiek voor de volksgezondheid en niet zozeer om een problematiek die louter betrekking heeft op omwonenden van stallen.

In Nederland zijn het verkeer en vervoer de grootste bronnen voor primair fijnstof (36%), de landbouwsector is verantwoordelijk voor 20% van de totale PM₁₀ concentratie. Binnen de landbouwsector blijkt dat de pluimveehouderijen de belangrijkste bron zijn voor primair fijnstof, de varkenshouderijen zijn verantwoordelijk voor ongeveer 15% van de PM₁₀-uitstoot binnen de landbouw. Door een toename in het gebruik van luchtwassers is de fijnstofuitstoot van varkenshouderijen de afgelopen jaren met 38% gedaald. Op de meeste plaatsen in Nederland wordt er voldaan aan de Europese jaargrenswaarde (40 µg/m³ voor PM₁₀ en 25 µg/m³ voor PM_{2,5}), voor zowel PM_{2,5} als PM₁₀. Echter, de jaaradvieswaarden (20 µg/m³ voor PM₁₀ en 10 µg/m³ voor PM_{2,5}) van de WGO worden op meerdere plaatsen in Nederland overschreden. De WGO baseert zich voor de bepaling van haar advieswaarden enkel op de gezondheidsstudies en houdt dus geen rekening met haalbaarheid of economische belangen. Volgens de WGO is er geen veilige drempelwaarde waaronder geen nadelige effecten voorkomen. In tegenstelling tot ammoniak zijn er in het geval van fijnstof verschillende andere bronnen naast landbouw die bijdragen aan de primaire fijn stof emissie. Het aandeel van lokale landbouwbedrijven aan de primaire fijnstofconcentraties in hun omgeving zal dan ook een stuk lager zijn dan deze aan ammoniak.

In deze literatuurstudie werd de huidige kennis omtrent endotoxinen weergegeven. Algemeen blijkt dat er op vele vlakken nood is aan verder onderzoek. Voor wat de meetprotocollen voor endotoxinen betreft, is het aangeraden om een gestandaardiseerd protocol te ontwikkelen voor de endotoxinebepaling in lucht. In dit protocol dienen de monstername, extractiestap en de wijze van opslag en transport in detail te worden beschreven. Op deze manier kunnen variaties tussen laboratoria beperkt worden. Om de vergelijking tussen studies mogelijk te maken, dienen volgende factoren duidelijk gerapporteerd te worden: seizoen, vloertype, tijdstip meting, aantal varkens, plaats van de meting, windrichting, windsnelheid en terreinruwheid.

Deze literatuurstudie toont aan dat de endotoxineconcentraties in de stallen en omgeving van varkenshouderijen sterk kunnen variëren. Er werden geen studies teruggevonden die de individuele bronnen van endotoxinen in varkenshouderijen beschrijven. Verder onderzoek hieromtrent is nodig. Immers, wanneer deze bronnen in kaart worden gebracht, kunnen er gerichtere reductiemaatregelen

worden gezocht en toegepast. Over de stabiliteit van endotoxinen in de omgeving is eveneens weinig informatie beschikbaar.

Endotoxinen afkomstig van veehouderijen zijn voornamelijk geassocieerd met stofdeeltjes en verspreiden zich met de ventilatielucht en/of via openingen naar de omgeving. Aangezien endotoxinen zich voornamelijk aan de grovere fijnstoffractie hechten, zullen deze vermoedelijk sneller neerslaan dan fijnere fijnstoffracties. De kans dat zuivere endotoxinen een risico vormen voor de omwonenden wordt als beperkt ingeschat.

Bijkomend onderzoek is dan ook nodig om een eventueel causaal verband aan te tonen tussen endotoxineconcentraties, al of niet gelinkt aan bepaalde stoffracties en hun zuiverheid, en het effect op de gezondheid van de mens. Er zijn momenteel geen wetenschappelijke data voorhanden om hieromtrent een uitspraak te doen. Daar waar lage concentratie aan de basis zouden kunnen liggen van mogelijke positieve effecten, zouden hoge concentraties gekoppeld aan fijnstoffracties negatieve effecten teweeg kunnen brengen. Verder onderzoek is noodzakelijk om richting te geven aan de vaststelling van een veiligheidsnorm voor endotoxineconcentraties, specifiek gelinkt aan de betrokken diercategorie, en de wijze waarop deze zou kunnen toegepast worden.

7 Referenties

- Aarnink, A. J. ., Hattum, T. G. van, & Ogink, N. W. M. (2015). Variations of bacteria and endotoxin concentrations in houses for fattening pigs and broilers within and between days Variations of bacteria and endotoxin concentrations in houses for fattening pigs and broilers within and between days.
- Aarnink, A. J. A., Cambra-López, M., Lai, H. T. L., & Ogink, N. W. M. (2011). Deeltjesgrootteverdeling en bronnen van stof in stallen; Samenvattende rapportage.
- Adell, E., Moset, V., Zhao, Y., Jiménez-belenguer, A., & Cerisuelo, A. (2014). Comparative performance of three sampling techniques to detect airborne Salmonella species in poultry farms. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 21(1), 15–24.
- Aires-de-Sousa, M. (2017). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus among animals: current overview. *Clinical Microbiology and Infection*, 23(6), 373–380. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.11.002>
- Agriholland. (2015). Ammoniak en veehouderij. Verkregen op 15 januari 2018, van: <https://www.agriholland.nl/dossiers/ammoniak/home.html>
- ASTM. (2007) E2144-1—Standard Practice for Personal Sampling and Analysis of Endotoxin in Metalworking Fluid Aerosols in Workplace Atmospheres. ASTM International (American Society for Testing and Material), Wet Conshohocken.
- Astrakianakis, G., Seixas, N. S., Ray, R., Camp, J. E., Gao, D. L., Feng, Z., ... Checkoway, H. (2007). Lung cancer risk among female textile workers exposed to endotoxin. *Journal of the National Cancer Institute*, 99(5), 357–364. <https://doi.org/10.1093/jnci/djk063>
- Basinas, I., Sigsgaard, T., Kromhout, H., Heederik, D., Wouters, I. M., & Schläunssen, V. (2015). A comprehensive review of levels and determinants of personal exposure to dust and endotoxin in livestock farming. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 25(2), 123–137. <https://doi.org/10.1038/jes.2013.83>
- Bønløkke, J. H., Meriaux, A., Duchaine, C., Godbout, S., & Cormier, Y. (2009). Seasonal variations in work-related health effects in swine farm workers. *Industry & Innovation*, 10(3), 311–329. <https://doi.org/10.1080/1366271032000141661>
- Borlée, F., Yzermans, J., Heederik, D., & Smit, L. (2013). Increased respiratory symptoms and medication use in COPD patients living in the vicinity of livestock farms . [Abstract; to Be Presented at European Respiratory Society Annual Conference], 46(6), 1605–1614. <https://doi.org/10.1183/13993003.00265-2015>
- Bortolaia, V., Guardabassi, L., Trevisani, M., Bisgaard, M., Venturi, L., & Bojesen, A. M. (2010). High diversity of extended-spectrum β -lactamases in Escherichia coli isolates from Italian broiler flocks. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(4), 1623–1626. <https://doi.org/10.1128/AAC.01361-09>
- Brusselmans, E., Van Coillie, E., Van Pamel, E., Verhegge, M., Demeyer, P., Willekens, K., ... Herman, L. (2018). *Intensieve veeteelt en de gezondheid van omwonenden*.
- Buekers, J., Deutsch, F., Veldeman, N., Janssen, S., & Panis, L. I. (2014). Fine Atmospheric Particles from Agricultural Practices in Flanders: From Emissions to Health Effects and Limit Values. *Outlook on Agriculture*, 43(1), 39–44. <https://doi.org/10.5367/oa.2014.0153>
- Buijsman, E., Cassee, R., Fischer, P., Hoogerbrugge, R., Maas, R., Van der Swaluw, E., & Van Zanten, M. (2012). Dossier “Fijn stof” [Dutch], 113.
- Cambra-López, M., Hermosilla, T., H.T.L, L., Aarnink, A., & N. W. M, O. (2011). *Particulate Matter Emitted from Poultry and Pig Houses: Source Identification and Quantification. Transactions of the ASABE (American Society of Agricultural and Biological Engineers)* (Vol. 54). <https://doi.org/10.13031/2013.36466>
- Caroff, M., & Karibian, D. (2003). Structure of bacterial lipopolysaccharides. *Carbohydrate Research*, 338(23), 2431–2447. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carres.2003.07.010>
- Castellan, R. M., Olenchock, S. A., Kinsley, K. B., & Hankinson, J. L. (1987). Inhaled Endotoxin and Decreased Spirometric Values. *New England Journal of Medicine*, 317(10), 605–610. <https://doi.org/10.1056/NEJM198709033171005>
- Chang, C. W., Chung, H., Huang, C. F., & Su, H. J. (2001). Exposure assessment to airborne endotoxin, dust, ammonia, hydrogen sulfide and carbon dioxide in open style swine houses. *Annals of Occupational Hygiene*, 45(6), 457–465. [https://doi.org/S0003-4878\(00\)00081-8](https://doi.org/S0003-4878(00)00081-8) [pii]

- Chen, H., Astrakianakis, G., Demers, P., & Davies, H. (2017). 0384 Endotoxin exposure and lung disease in sawmill workers: a cohort study. *Occupational and Environmental Medicine*, 74(Suppl 1), A120 LP-A121. Retrieved from http://oem.bmj.com/content/74/Suppl_1/A120.2.abstract
- Chinivasagam, H. N., Tran, T., Maddock, L., Gale, A., & Blackall, P. J. (2009). Mechanically ventilated broiler sheds: A possible source of aerosolized Salmonella, Campylobacter, and Escherichia coli. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23), 7417–7425. <https://doi.org/10.1128/AEM.01380-09>
- Christensen, H., Vinzents, P., Nielsen, B. H., Finsen, L., Pedersen, M. B., & Sjøgaard, G. (1992). Occupational exposures and health among Danish farmers working in swine confinement buildings. *International Journal of Industrial Ergonomics*, 10(4), 265–273. [https://doi.org/10.1016/0169-8141\(92\)90093-F](https://doi.org/10.1016/0169-8141(92)90093-F)
- Coggins, M., Donnell, P. M., Fleming, G., & Hogan, V. (2007). Exposure assessment to airborne contaminants in the indoor environment of Swine Farms Project Team : *Victoria*, (February).
- Comité Européen de Normalisation. (2000) Workplace atmosphere—Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin. (CEN standard EN 13098). CEN, Brussels, Belgium.
- Comité Européen de Normalisation. (2003) Workplace atmosphere—Determination of airborne endotoxins. (CEN standard EN 14031). CEN, Brussels, Belgium.
- de Haan, B., Kros, J., Bobbink, R., van Jaarsveld, J., de Vries, W., & Noordwijk, H. (2008). *Ammoniak in Nederland*.
- de Rooij, M. M. T., Heederik, D. J. J., Borlée, F., Hoek, G., & Wouters, I. M. (2017). Spatial and temporal variation in endotoxin and PM10 concentrations in ambient air in a livestock dense area. *Environmental Research*, 153(December 2016), 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.12.004>
- Diarrassouba, F., Diarra, M., Bach, S., Delaquis, P., Pritchard, J., Topp, E., & Skura, B. (n.d.). Antibiotic resistance and virulence genes in commensal Escherichia coli and Salmonella isolates from commercial broiler chicken farms. *J. Food Prot.*, 70, 1316–27.
- Donham, K., Haglund, P., Peterson, Y., Rylander, R., & Belin, L. (1989). Environmental and health studies of farm workers in Swedish swine confinement buildings. *British Journal of Industrial Medicine*, 46(1), 31–37. <https://doi.org/10.1136/oem.46.1.31>
- Donham, K. J., Cumro, D., & Reynolds, S. (2002). Synergistic Effects of Dust and Ammonia on the Occupational Health Effects of Poultry Production Workers. *Journal of Agromedicine*, 8(2), 57–76. https://doi.org/10.1300/J096v08n02_09
- Douwes, J., Versloot, P., Hollander, A., Heederik, D., & Doekes, G. (1995). Influence of various dust sampling and extraction methods on the measurement of airborne endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5), 1763–1769.
- Duquenne, P., Marchand, G., & Duchaine, C. (2013). *Measurement of endotoxins in bioaerosols at workplace: A critical review*. *Annals of Occupational Hygiene* (Vol. 57). <https://doi.org/10.1093/annhyg/mes051>
- Duquenne, P., Simon, X., Koehler, V., Goncalves-Machado, S., Greff, G., Nicot, T., & Poirot, P. (2012). Documentation of bioaerosol concentrations in an indoor composting facility in France. *Journal of Environmental Monitoring*, 14(2), 409–419. <https://doi.org/10.1039/C2EM10714G>
- Dutkiewicz, J., Krysińska-Traczyk, E., Skórska, C., Cholewa, G., & Sitkowska, J. (2002). Exposure to airborne microorganisms and endotoxin in a potato processing plant. *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*, 9(2), 225–235.
- ECDC, EFSA, & EMA. (2017). ECDC/EFSA/EMA second report joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-processing animals - Joint Interagency Antimicrobial Consumption and. *EFSA Journal*, 15(7), 4872.
- Eduard, W. (2004). Do farming exposures cause or prevent asthma? Results from a study of adult Norwegian farmers. *Thorax*, 59(5), 381–386. <https://doi.org/10.1136/thx.2004.013326>
- EFSA. (2008). Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard. *The EFSA Journal*, 765, 1–87.
- EFSA. (2017). Public health risks associated with hepatitis E virus (HEV) as a food-borne pathogen. *EFSA Journal*, 15(7), 4886.
- Emissieregistratie. (2017). Verkregen op 8 januari, 2018, van: <http://www.emissieregistratie.nl/erpubliek/erpub/weergave/grafiek.aspx>
- EPA. (2016). Toxicological review of ammonia (noncancer inhalation): executive summary, (September), 10. Retrieved from https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0422_summary.pdf

- Gezondheidsraad. (2010). *Endotoxins: health-based recommended occupational exposure limit*.
- Gezondheidsraad. (2012). *Gezondheidsrisico's rond veehouderijen*.
- Gezondheidsraad. Gezondheidsrisico's rond veehouderijen: vervolgadvis. (2018, februari 14). Verkregen op 9 maart, 2018 van: <https://www.gezondheidsraad.nl/nl/taak-werkwijze/werkterrein/preventie/gezondheidsrisicos-rond-veehouderijen-vervolgadvis>
- Giofrè, A., Marramao, A., & Iannò, A. (2012). Airborne Microorganisms, Endotoxin, and Dust Concentration in Wood Factories in Italy. *The Annals of Occupational Hygiene*, 56(2), 161–169. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mer082>
- Green, C., Gibbs, S., Tarwater, P., Mota, L., & Scarpino, P. (2006). Bacterial plume emanating from the air surrounding swine confinement operations. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 3(1), 9–15. <https://doi.org/10.1080/15459620500430615>
- Halstensen, A. S., Nordby, K. C., Wouters, I. M., & Eduard, W. (2007). Determinants of Microbial Exposure in Grain Farming. *The Annals of Occupational Hygiene*, 51(7), 581–592. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mem038>
- Han, S., & Micallef, S. (2014). Salmonella Newport and Typhimurium colonization of fruit differs from leaves in various tomato cultivars. *Journal of Food Protection*, 77(11), 1844–1850. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-562>
- Hanekamp, J., Crok, M., Brigg, M., (2017). Ammoniak in Nederland Enkele kritische wetenschappelijke kanttekeningen. Verkregen op 25 april 2018, van: <https://nmv.nu/wordpress/wp-content/uploads/2017/01/Ammoniak-in-Nederland-Enkele-kritische-kanttekeningen-170120.pdf>
- Harper, M., & Ashley, K. (2013). Acid-Soluble Internal Capsules for Closed-Face Cassette Elemental Sampling and Analysis of Workplace Air. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 10(6), 297–306. <https://doi.org/10.1080/15459624.2013.777310>
- Heederik, D., Andr, N., Wielaard, P., Maas, N. J., & Maart, N. (2013). Dossier Endotoxinen, 1–40.
- Heederik, D., & Douwes, J. (1997). Towards an occupational exposure limit for endotoxins. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 4, 17–19.
- Hetem, D. J., Bootsma, M. C. J., Troelstra, A., & Bonten, M. J. M. (2013). Transmissibility of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 19(11), 1797–1802. <https://doi.org/10.3201/eid1911.121085>
- Hinz, T., Linke, S., Berk, J., & Wartemann, S. (2006). *Airborne contaminants in an alternative turkey house: 1. Gases. Landbauforschung Volkenrode* (Vol. 56).
- Huijbers, P. M. C., de Kraker, M., Graat, E. A. M., van Hoek, A. H. A. M., van Santen, M. G., de Jong, M. C. M., ... de Greeff, S. C. (2013). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in humans living in municipalities with high and low broiler density. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(6). <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12150>
- Inagawa, H., Kohchi, C., & Soma, G.-I. (2011). *Oral Administration of Lipopolysaccharides for the Prevention of Various Diseases: Benefit and Usefulness*. *Anticancer research* (Vol. 31).
- Industox. (n.d.). Endotoxine Reactie op het gezondheidkundige grenswaarde op de werkplek.
- Irceline. (2017). Gezondheidsimpact van fijn stof: is er een verminderde levensverwachting?. Verkregen op 8 januari, van: <http://www.irceline.be/nl/documentatie/faq/wat-is-de-impact-op-de-gezondheid-van-verhoogde-concentraties>
- Janssen, N., Hoek, G., Simic, M., Fischer, P., Bree, L., ten Brink, H., ... Cassee, F. (2011). *Black Carbon as an Additional Indicator of the Adverse Health Effects of Airborne Particles Compared with PM10 and PM2.5*. *Environmental health perspectives* (Vol. 119). <https://doi.org/10.1289/ehp.1003369>
- Khedher, S. B., Neri, M., Guida, F., Matrat, M., Cenée, S., Sanchez, M., ... Stücker, I. (2017). Occupational exposure to endotoxins and lung cancer risk: Results of the ICARE Study. *Occupational and Environmental Medicine*, 667–679. <https://doi.org/10.1136/oemed-2016-104117>
- Kiryuchuk, S. P. (1998). Predictors of longitudinal changes in pulmonary function among swine confinement workers. *Canadian Respiratory Journal*, 5(6), 472–478.
- Kiryuchuk, S. P., Reynolds, S. J., Koehncke, N. K., Lawson, J., Willson, P., Senthilselvan, A., ... Dosman, J. A. (2010). Endotoxin and Dust at Respirable and Nonrespirable Particle Sizes are not Consistent Between Cage- and Floor-Housed Poultry Operations. *The Annals of Occupational Hygiene*, 54(7), 824–832. Retrieved from

- <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/meq047>
- Kline, J. N., Cowden, J. D., Hunninghake, G. W., Schutte, B. C., Watt, J. L., Wohlford-Lenane, C. L., ... Schwartz, D. A. (1999). Variable airway responsiveness to inhaled lipopolysaccharide. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160(1), 297–303. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.160.1.9808144>
- Knetsch, C. W., Connor, T. R., Mutreja, A., van Dorp, S. M., Sanders, I. M., Browne, H. P., ... Lawley, T. D. (2014). Whole genome sequencing reveals potential spread of *Clostridium difficile* between humans and farm animals in the Netherlands, 2002 to 2011. *Euro Surveillance*, 19(45), 20954. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.45.20954>
- Kojima, A., Asai, T., Ishihara, K., Morioka, A., Akimoto, K., Sugimoto, Y., ... Takahashi, T. (2009). National monitoring for antimicrobial resistance among indicator bacteria isolated from food-producing animals in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 71(10), 1301–8.
- Kumar, G. D., Williams, R. C., Al Qublan, H. M., Sriranganathan, N., Boyer, R. R., & Eifert, J. D. (2017). Airborne soil particulates as vehicles for *Salmonella* contamination of tomatoes. *International Journal of Food Microbiology*, 243, 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.12.006>
- Laitinen, S. (1999). *Importance of sampling, extraction and preservation for the quantitation of biologically active endoto.* *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM* (Vol. 6).
- Laitinen, S., Nevalainen, a, & Kotimaa, M. (1992). Relationship between bacterial counts and endotoxin concentrations in the air of wastewater treatment plants . Relationship between Bacterial Counts and Endotoxin Concentrations in the Air of Wastewater Treatment Plants, 58(11), 3774–3776.
- Lenters, V., Basinas, I., Beane-Freeman, L., Boffetta, P., Checkoway, H., Coggon, D., ... Vermeulen, R. (2010). Endotoxin exposure and lung cancer risk: a systematic review and meta-analysis of the published literature on agriculture and cotton textile workers. *Cancer Causes & Control*, 21(4), 523–555. <https://doi.org/10.1007/s10552-009-9483-z>
- Liebers, V., Raulf-Heimsoth, M., Linsell, G., Goldscheid, N., Düser, M., Stubel, H., & Brüning, T. (2007). Evaluation of quantification methods of occupational endotoxin exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 70(21), 1798–1805. <https://doi.org/10.1080/15287390701459072>
- Maassen, K., Smit, L., Wouters, I., Duijkeren, E. van, Janse, I., Hagenaars, T., ... Heederik, D. (2016). Veehouderij en gezondheid omwonenden.
- MADSEN, A. M. (2006). Exposure to Airborne Microbial Components in Autumn and Spring During Work at Danish Biofuel Plants. *The Annals of Occupational Hygiene*, 50(8), 821–831. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/mel052>
- Michel, O., Duchateau, J., & Sergysels, R. (1989). *Effect of inhaled endotoxin on bronchial reactivity in asthmatic and normal subjects.* *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* (Vol. 66). <https://doi.org/10.1152/jappl.1989.66.3.1059>
- Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedsel kwaliteit (n.d.). Hoe werk het PAS?. Verkregen op 28 februari, 2018 van: <https://www.synbiosys.alterra.nl/natura2000/gebiedendatabase.aspx?subj=pas&deel=1>
- Mølbak, K. (2004). Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans--the public health consequences. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health*, 51, 364–369.
- Mølbak, K. (2005). Human health consequences of antimicrobial drug-resistant *Salmonella* and other foodborne pathogens. *Clin. Infect. Dis.*, 41, 1613–1620.
- Morgenstern, V., Bischof, W., Koch, A., & Heinrich, J. (2006). Measurements of endotoxin on ambient loaded PM filters after long-term storage. *Science of The Total Environment*, 370(2), 574–579. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.08.027>
- Nordstrom, L., Liu, C., & Price, L. (2013). Foodborne urinary tract infections: a new paradigm for antimicrobial-resistant foodborne illness. *Front. Microbiol.* 4:29, 4(29).
- O'Shaughnessy, P. T., Donham, K. J., Peters, T. M., Taylor, C., Altmaier, R., & Kelly, K. M. (2010). A task-specific assessment of swine worker exposure to airborne dust. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 7(1), 7–13. <https://doi.org/10.1080/15459620903327970>
- Ogink, N. W. M., M. M. de Ruiter, P. W. G. G. Koerkamp, and C. E. van't Klooster. 1997b. Emissions of dust and endotoxins from swine house buildings. In Proceedings of the 1997 ASAE Annual International Meeting. Part 1 (of 3). August 10-14, 1997. Minneapolis, MN, USA: ASAE.
- Ogink, N., Erbrink, J., Heederik, D., Winkel, A., & Wouters, I. (2016). [Emissions of endotoxins from animal

- production: emission measurements and dispersion modelling], 96. Retrieved from <http://edepot.wur.nl/385497>
- Omgevingsrecht Bestuurlijk Platform. (2016). *Notitie Handelingsperspectieven Veehouderij en Volksgezondheid* : Paudyal, P., Semple, S., Niven, R., Tavernier, G., & Ayres, J. G. (2011). Exposure to Dust and Endotoxin in Textile Processing Workers. *The Annals of Occupational Hygiene*, 55(4), 403–409. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/meq084>
- Pavilonis, B. T., Anthony, T. R., O'Shaughnessy, P. T., Humann, M. J., Merchant, J. A., Moore, G., ... Sanderson, W. T. (2013). Indoor and outdoor particulate matter and endotoxin concentrations in an intensely agricultural county. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 23(3), 299–305. <https://doi.org/10.1038/jes.2012.123>
- Perbal, G. (1987). Ammoniak, 1–8. Retrieved from <http://www.chemischefeitelijkheden.nl/Uploads/Magazines/h042.pdf>
- Post, W., Heederik, D., & Houba, R. (1998). Decline in lung function related to exposure and selection processes among workers in the grain processing and animal feed industry. *Occup Environ Med*, 55(5), 349–355. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9764113>
- Prazmo, Z., Dutkiewicz, J., Skórska, C., Sitkowska, J., & Cholewa, G. (2003). Exposure to airborne Gram-negative bacteria, dust and endotoxin in paper factories. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine : AAEM*, 10(1), 93–100. Retrieved from <http://europemc.org/abstract/MED/12852739>
- Preller, L., Heederik, D., Kromhout, H., Boleij, J. S. M., & Tielen, M. J. M. (1995). Determinants of dust and endotoxin exposure of pig farmers: Development of a control strategy using empirical modelling. *Annals of Occupational Hygiene*, 39(5), 545–557. <https://doi.org/10.1093/annhyg/39.5.545>
- Reuland, E. A., Al Naiemi, N., Kaiser, A. M., Heck, M., Kluytmans, J. A. J. W., Savelkoul, P. H. M., ... Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. (2016). Prevalence and risk factors for carriage of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Amsterdam. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(4), 1076–1082. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv441>
- Rijkinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. (n.d.). Grootschalige Concentratie- en Depositiekaarten Nederland. Verkregen op 2 februari 2018, van: <http://geodata.rivm.nl/gcn/>
- Rijksoverheid . Ammoniakemissie door de land- en tuinbouw : 1990-2015. (2017, september 15). Verkregen op 8 januari, 2018, van: <http://www.clo.nl/indicatoren/nl0101-ammoniakemissie-door-de-land-en-tuinbouw>
- Rijksoverheid.(2007). Toetsingskader ammoniak en Natura 2000. Verkregen op 29 januari 2018, van: <https://www.rijksoverheid.nl/documenten/rapporten/2007/05/22/toetsingskader-ammoniak-en-natura-2000-bijlage-17>
- Rijkswaterstaat Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (n.d.). Besluit emissiearme huisvesting. Verkregen op 28 februari, 2018 van: <https://www.infomil.nl/onderwerpen/landbouw/ammoniak/nieuw-besluit/>
- Rijkswaterstaat Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (n.d.). Actieplan ammoniak en stoppersmaatregelen. Verkregen op 28 februari, 2018 van: <https://www.infomil.nl/onderwerpen/landbouw/ammoniak/actieplan-stoppers/>
- Rutledge-Jonker, S., Berkhout, J., Wesseling, J., Mooibroek, D., & Nguyen, P. (2017). Monitorings- rapportage NSL.
- Rylander, R. 1997. Endotoxins in the environment: A criteria document. *Int. J. Occup. And Env. Health supp.* 3(1):S1-S48.
- Schierl, R., Heise, A., Egger, U., Schneider, F., Eichelser, R., Naser, S., & Nowak, D. (2007). Endotoxin concentration in modern animal houses in Southern Bavaria. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14(1), 129–136. <https://doi.org/10.14129/pii>
- Schiffman, S. S., Studwell, C. E., Landerman, L. R., Berman, K., & Sundy, J. S. (2005). Symptomatic effects of exposure to diluted air sampled from a swine confinement atmosphere on healthy human subjects. *Environmental Health Perspectives*, 113(5), 567–576. <https://doi.org/10.1289/ehp.6814>
- Schinasi, L., Horton, R. A., Guidry, V. T., Wing, S., Marshall, S. W., & Morland, K. B. (2011). Air Pollution, Lung Function, and Physical Symptoms in Communities Near Concentrated Swine Feeding Operations. *Epidemiology*, 22(2), 208–215. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3182093c8b>
- Schulz, J., Friese, A., Klees, S., Tenhagen, B. A., Fetsch, A., Rösler, U., & Hartung, J. (2012). Longitudinal study of the contamination of air and of soil surfaces in the vicinity of pig barns by livestock-associated methicillin-

- resistant *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(16), 5666–5671.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00550-12>
- Schulze, A., van Strien, R., Ehrenstein, V., Schierl, R., Küchenhoff, H., & Radon, K. (2006). Ambient endotoxin level in an area with intensive livestock production. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine : AAEM*, 13(1), 87–91. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/16841878>
- Seedorf, J., Hartung, J., Schröder, M., Linkert, K. H., Phillips, V. R., Holden, M. R., ... Wathes, C. M. (1998). Concentrations and Emissions of Airborne Endotoxins and Microorganisms in Livestock Buildings in Northern Europe. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 70(1), 97–109.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/jaer.1997.0281>
- Siggers, J. L., Kirychuk, S. P., Lemay, S. P., & Willson, P. J. (2011). Size Distribution of Particulate and Associated Endotoxin and Bacteria in Traditional Swine Barn Rooms and Rooms Sprinkled With Oil. *Journal of Agromedicine*, 16(4), 271–279. <https://doi.org/10.1080/1059924X.2011.606418>
- Sin, D. D., Wu, L., & Man, S. F. P. (2005). The Relationship Between Reduced Lung Function and Cardiovascular Mortality: A Population-Based Study and Systematic Review of the Literature. *Chest*, 127(6), 1952–1959.
<https://doi.org/10.1378/chest.127.6.1952>
- Smet, A., Martel, A., Persoons, D., Dewulf, J., Heyndrickx, M., Catry, B., ... Butaye, P. (2008). Diversity of extended-spectrum beta-lactamases and class C beta-lactamases among cloacal *Escherichia coli* isolates in Belgian broiler farms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(4), 1238–1243.
<https://doi.org/10.1128/AAC.01285-07>
- Smid, T., Heederik, D., Houba, R., & Quanjer, P. H. (1992). Dust- and endotoxin-related respiratory effects in the animal feed industry. *Am Rev Respir Dis*, 146(6), 1474–1479. <https://doi.org/10.1164/ajrccm/146.6.1474>
- Smit, L. A. M., Heederik, D., Doekes, G., Lammers, J. W. J., & Wouters, I. M. (2010). Occupational endotoxin exposure reduces the risk of atopic sensitization but increases the risk of bronchial hyperresponsiveness. *International Archives of Allergy and Immunology*, 152(2), 151–158. <https://doi.org/10.1159/000265536>
- Smit, L. A. M., Hooiveld, M., van der Sman-de Beer, F., Opstal-van Winden, A. W. J., Beekhuizen, J., Wouters, I. M., ... Heederik, D. (2014). Air pollution from livestock farms, and asthma, allergic rhinitis and COPD among neighbouring residents. *Occupational and Environmental Medicine*, 71(2), 134–140.
<https://doi.org/10.1136/oemed-2013-101485>
- Smit, L. A. M., Spaan, S., & Heederik, D. (2005). Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 48(1), 30–39. <https://doi.org/10.1002/ajim.20176>
- Smits, W. K. (2013). Hype or hypervirulence: a reflection on problematic *C. difficile* strains. *Virulence*, 4(7), 592–6.
<https://doi.org/10.4161/viru.26297>
- Spaan, S. (2009). *Endotoxin exposure assessment--measurement and characterization*. *Tijdschrift voor Toegepaste Arbeidwetenschap*.
- Spaan, S., Heederik, D. J. J., Thorne, P. S., & Wouters, I. M. (2007). Optimization of airborne endotoxin exposure assessment: Effects of filter type, transport conditions, extraction solutions, and storage of samples and extracts. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(19), 6134–6143.
<https://doi.org/10.1128/AEM.00851-07>
- Spaan, S., Wouters, I. M., Oosting, I., Doekes, G., & Heederik, D. (2006). Exposure to inhalable dust and endotoxins in agricultural industries. *Journal of Environmental Monitoring*, 8(1), 63–72.
<https://doi.org/10.1039/B509838F>
- Spierenburg, E. A. J., Smit, L. A. M., Krop, E. J. M., Heederik, D., Hylkema, M. N., & Wouters, I. M. (2017). Occupational endotoxin exposure in association with atopic sensitization and respiratory health in adults: Results of a 5-year follow-up. *PloS One*, 12(12), e0189097. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189097>
- Stephenson, D., Lillquist, D., DeRosso, F., Greene, D., & White, G. (2004). *Side-by-side comparison of three sampling methods for aerosolized endotoxin in a wastewater treatment facility*. *Journal of environmental health* (Vol. 67). <https://doi.org/10.3320/1.2766337>
- Strak, M., Steenhof, M., Godri, K. J., Gossens, I., Mudway, I. S., Cassee, F. R., ... Janssen, N. A. H. (2011). Variation in characteristics of ambient particulate matter at eight locations in the Netherlands – The RAPTES project. *Atmospheric Environment*, 45(26), 4442–4453.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.05.035>
- Streit, J., Jones, R., Toleman MA, Stratchounski, L., & Fritsche, T. (2006). Prevalence and antimicrobial

- susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and Salmonella isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Ant. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 27(367–75).
- T W Chun, D., Bartlett, K., Gordon, T., Jacobs, R., Larsson, B.-M., Larsson, L., ... Würtz, H. (2006). *History and results of the two inter-laboratory round robin endotoxin assay studies on cotton dust. American journal of industrial medicine* (Vol. 49). <https://doi.org/10.1002/ajim.20266>
- Thiry, D., Mauroy, A., Saegerman, C., Thomas, I., Wautier, M., Miry, C., ... Thiry, E. (2014). Estimation of hepatitis E virus (HEV) pig seroprevalence using ELISA and Western blot and comparison between human and pig HEV sequences in Belgium. *Veterinary Microbiology*, 172(3–4), 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.004>
- Thorne, P. S., Ansley, A. C., & Perry, S. S. (2009). Concentrations of bioaerosols, odors, and hydrogen sulfide inside and downwind from two types of swine livestock operations. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 6(4), 211–220. <https://doi.org/10.1080/15459620902729184>
- Thorne, P. S., Bartlett, K. H., Phipps, J., & Kulhankova, K. (2003). Evaluation of Five Extraction Protocols for Quantification of Endotoxin in Metalworking Fluid Aerosol. *The Annals of Occupational Hygiene*, 47(1), 31–36. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1093/annhyg/meg009>
- van Dijk, C. E., Zock, J. P., Baliatsas, C., Smit, L. A. M., Borlée, F., Spreeuwenberg, P., ... Yzermans, C. J. (2017). Health conditions in rural areas with high livestock density: Analysis of seven consecutive years. *Environmental Pollution*, 222, 374–382. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.023>
- Varma, J., Greene, K., Ovitt, J., Barrett, T., Medalla, F., & Angulo, F. (2005). Hospitalization and antimicrobial resistance in Salmonella outbreaks, 1984–2002. *Emerg. Infect. Dis.*, 11(6), 943–6.
- VLM. (2011). *Voortgangsrapport Mestbank*.
- Vogelzang, P. F. J., Van Der Gulden, J. W. J., Folgering, H., Kolk, J. J., Heederik, D., Preller, L., ... Van Schayck, C. P. (1998). Endotoxin exposure as a major determinant of lung function decline in pig farmers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 157(1), 15–18. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.1.9703087>
- von Salvati, C., Laube, H., Guerra, B., Roesler, U., & Friese, A. (2015). Emission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from pig fattening farms to surrounding areas. *Veterinary Microbiology*, 175(1), 77–84. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.10.010>
- Wageningen University & Research. Pluimveehouderij veroorzaakt twee derde van de fijnstofemissie uit de landbouw. (2017, december 18). Verkregen op 8 januari van: <http://www.agrimatie.nl/SectorResultaat.aspx?subpubID=2232§orID=2255&themaID=2274>
- Wageningen University & Research. Ammoniak. (n.d.). Verkregen op 16 januari 2018, van: <https://www.wur.nl/nl/Dossiers/dossier/Ammoniak.htm>
- Wageningen University & Research. Ammoniakemissie in de varkenshouderij blijft dalen. (2017, december 18). Verkregen op 28 februari, 2018 van: <http://www.agrimatie.nl/SectorResultaat.aspx?subpubID=2232§orID=2255&themaID=2282>
- Winkel, A., & Wouters, I. M. (2014). Emissies van endotoxinen uit de veehouderij : een literatuurstudie voor ontwikkeling van een toetsingskader, 84.
- Woerther, P., Burdet, C., Chachaty, E., & Andreumont, A. (2013). Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: Toward the globalization of CTX-M. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(4), 744–758. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-13>
- Xu, L.-Y., Wang, K., Li, W.-J., Guo, Y.-L., & Kong, J.-L. (2016). Effect of endotoxin exposure on lung cancer risk in cotton textile mills and agriculture: a meta-analysis. *Translational Cancer Research; Vol 5, No 3 (June 2016): Translational Cancer Research*. Retrieved from <http://tcr.amegroups.com/article/view/7973>
- Zheng, J., Allard, S., Reynolds, S., Millner, P., Arce, G., Blodgett, R. J., & Brown, E. W. (2013). Colonization and internalization of salmonella enterica in tomato plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(8), 2494–2502. <https://doi.org/10.1128/AEM.03704-12>
- Zucker, B. A., and W. Müller. 2002. Investigations on airborne microorganisms in animal stables - 4. Report: Airborne gram-negative bacteria and airborne endotoxin in pig houses. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 115(1-2):30-36.

