



Emissies van endotoxinen uit de veehouderij: een literatuurstudie voor ontwikkeling van een toetsingskader

Emissions of endotoxins from animal production: a literature survey for development of an assessment framework

A. Winkel, I.M. Wouters, A.J.A. Aarnink, D.J.J. Heederik, N.W.M. Ogink

Emissies van endotoxinen uit de veehouderij: een literatuurstudie voor ontwikkeling van een toetsingskader

Emissions of endotoxins from animal production: a literature survey for development of an assessment framework

A. Winkel¹, I.M. Wouters², A.J.A. Aarnink¹, D.J.J. Heederik², N.W.M. Ogink¹

¹ Livestock Research, Wageningen University and Research Centre

² Institute for Risk Assessment Sciences, Universiteit Utrecht

Wageningen UR Livestock Research
Wageningen, september 2014

Livestock Research Rapport 773

A. Winkel, I.M. Wouters, A.J.A. Aarnink, D.J.J. Heederik, N.W.M. Ogink, 2014. *Emissies van endotoxinen uit de veehouderij: een literatuurstudie voor ontwikkeling van een toetsingskader. Emissions of endotoxins from animal production: a literature survey for development of an assessment framework.* Wageningen, Wageningen UR (University & Research centre) Livestock Research, Livestock Research Rapport 773. 81 blz.

Samenvatting

In deze literatuurstudie is de stand van kennis samengevat rondom endotoxine emissies uit de veehouderij. Verder is verkend langs welke lijnen een toetsingskader voor endotoxinen kan worden ontwikkeld en is bepaald welke aanvullende kennis daarvoor moet worden vergaard.

Abstract

In this literature review, the state of knowledge is summarized on endotoxin emissions from animal production. Furthermore, the design of an assessment framework for endotoxins for use in permit granting is explored. Finally, lacking knowledge to develop such a framework has been determined.

Omslagfoto

De foto op de voorzijde toont monsternamen van PM10 in de buitenlucht met op de achtergrond een veehouderijbedrijf. Foto: Kees Rutten.

© 2014 Wageningen UR Livestock Research, Postbus 338, 6700 AH Wageningen, T 0317 48 39 53, E info.livestockresearch@wur.nl, www.wageningenUR.nl/livestockresearch. Livestock Research is onderdeel van Wageningen UR (University & Research centre).

Livestock Research aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke wijze dan ook zonder voorafgaande toestemming van de uitgever of auteur.



De certificering volgens ISO 9001 door DNV onderstreept ons kwaliteitsniveau. Op als onze onderzoeksopdrachten zijn de Algemene Voorwaarden van de Animal Sciences Group van toepassing. Deze zijn gedeponneerd bij de Arrondissementsrechtbank Zwolle.

Inhoud

Woord vooraf	5
Samenvatting	7
Summary	11
1 Inleiding	14
2 Endotoxinen: achtergrondinformatie	17
2.1 Wat zijn endotoxinen?	17
2.2 Het vóórkomen van endotoxinen	17
2.3 Gezondheidseffecten van endotoxinen	18
2.3.1 Gezondheidseffecten: lokaal en systemisch, acuut en chronisch	18
2.3.2 Beschermende effecten van endotoxineblootstelling	19
2.3.3 Verschillen tussen personen in respons na blootstelling aan endotoxinen	20
2.3.4 Gezondheidseffecten door endotoxinen rond veehouderijen	20
2.3.5 Grenswaarden voor endotoxine	21
2.4 Het meten van endotoxinen	22
2.4.1 Monstername middels filtratie	22
2.4.2 Monstername middels impingers	22
2.4.3 Voorzorgsmaatregelen bij monstername	22
2.4.4 Analyse van monsters met de LAL-test	23
2.4.5 Analyse van monsters met andere testsystemen	23
2.4.6 Meetprotocollen	24
2.4.7 Meetstrategie	24
2.5 Samenvattende conclusies hoofdstuk 2	25
3 Endotoxinen in stallucht	26
3.1 Bronnen van stofdeeltjes en endotoxinen in stallucht	26
3.2 Endotoxinegehalten in stof in stallucht en buitenlucht	28
3.3 Endotoxinegehalten in stalstof van verschillende deeltjesgrootte	30
3.4 Endotoxineconcentraties in stallucht	31
3.5 Relaties tussen endotoxinen en stof, ammoniak en geur	33
3.6 Processen en factoren van invloed op endotoxine concentraties	35
3.7 Samenvattende conclusies hoofdstuk 3	37
4 Emissies van endotoxinen uit de veehouderij	38
4.1 Emissies van endotoxinen uit stallen in bestaande literatuur	38
4.2 Variatiebronnen in endotoxine-emissies	39
4.3 Endotoxine-reducerende maatregelen in stallen	39
4.4 Emissies van endotoxinen bij mestopslag en -overslag	41
4.5 Emissies van endotoxinen uit mestbehandelingsinstallaties	41
4.6 Emissies van endotoxinen tijdens mestaanwending	43
4.7 Emissies van endotoxinen uit bodem en gewas	45
4.8 Samenvattende conclusies hoofdstuk 4	46
5 Endotoxinen in de buitenlucht	47
5.1 Achtergrondconcentraties van endotoxinen in de buitenlucht	47
5.2 Concentratiegradiënten van stof en endotoxinen rondom veehouderijen	49

5.3	De verspreiding van endotoxine via lucht en modellering van de omgevingsbelasting	52
5.4	Samenvattende conclusies hoofdstuk 5	54
6	Ontwerpaspecten van een toetsingskader voor endotoxine-emissies	55
6.1	Bestaande toetsingskaders voor endotoxinen in het buitenland	55
6.2	Bestaande toetsingskaders voor geur, fijn stof en ammoniak in Nederland	56
6.2.1	Geur	56
6.2.2	Fijn stof	56
6.2.3	Ammoniak	57
6.3	Vormgeving van een toetsingskader voor endotoxine	57
6.4	Uitwerking toetsingskader: inhoudelijke aandachtspunten en keuzes	58
6.4.1	Vaststelling endotoxine-emissie	59
6.4.2	Modellering verspreiding endotoxine	59
6.4.3	Grenswaarde	60
6.4.4	Validatie van het instrument	60
7	Conclusies en aanbevelingen	61
	Referenties	63
	Bijlage A: beknopt protocol ter bepaling van endotoxineconcentraties	74
	Bijlage B: samenstelling begeleidingscommissie	75
	Bijlage C: samenvatting in vraag en antwoord	76

Woord vooraf

In deze literatuurstudie is de stand van kennis samengevat rondom endotoxine emissies uit de veehouderij. Verder is verkend langs welke lijnen een toetsingskader voor endotoxinen kan worden ontwikkeld en is bepaald welke aanvullende kennis daarvoor moet worden vergaard.

Deze onderzoeksopdracht is binnen het kader van het Beleidsondersteunend onderzoek van het ministerie van Economische Zaken, thema Verduurzaming Veehouderijketens uitgevoerd, met financiering van het ministerie van Infrastructuur en Milieu. Het rapport is samengesteld door medewerkers van IRAS Universiteit Utrecht en Wageningen UR Livestock Research. Bij de samenstelling van het rapport is het projectteam ondersteund door een begeleidingscommissie met vertegenwoordigers van bij deze problematiek betrokken maatschappelijke partijen (zie bijlage B). Op deze plaats dank ik alle leden van de begeleidingscommissie voor hun waardevolle inbreng en het projectteam voor de eendrachtige en effectieve samenwerking.

Dr.ir. N.W.M. (Nico) Ogink
Projectleider

Samenvatting

Aanleiding

In Nederland bestaat ongerustheid over mogelijke gezondheidsrisico's van veehouderijbedrijven voor omwonenden, o.a. ten aanzien van stofdeeltjes en endotoxinen (ontstekingsbevorderende celwandresten van Gram-negatieve bacteriën) in dit stof die met de ventilatielucht van stallen worden uitgestoten. In een recent advies aan de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport stelt de Gezondheidsraad een gezondheidskundige grenswaarde voor van 30 EU/m³ (EU; endotoxin units) in buitenlucht die de algemene bevolking dient te beschermen. Met het beschikbaar komen van deze grenswaarde is een eerste basis ontstaan voor het ontwikkelen van een kwantitatief toetsingskader voor emissies van endotoxinen uit de veehouderij, zoals deze reeds bestaan voor ammoniak, geur en fijn stof.

Dit rapport

In deze literatuurstudie is verkend langs welke lijnen een toetsingskader voor endotoxinen kan worden ontwikkeld. Een toetsingskader voor endotoxinen zal alleen realistisch en haalbaar zijn wanneer deze opgesteld kan worden vanuit emissiemodellering. Voor emissiemodellering is het noodzakelijk dat kennis beschikbaar is over het niveau van endotoxine emissies, of – bij het ontbreken hiervan – dat emissies betrouwbaar geschat kunnen worden op basis van andere beschikbare informatie, zoals PM10 emissies en het gehalte van endotoxine in deze stoffractie. Daarom wordt in deze rapportage de stand van kennis weergegeven rondom concentraties en emissies van endotoxinen in de veehoude rij, hun verspreiding naar de omgeving, en mogelijke maatregelen om emissies te voorkomen. Ook is achtergrondinformatie over endotoxinen en bijbehorende gezondheidseffecten van endotoxinen samengevat. Hiermee is inzicht verkregen of informatie over endotoxine emissies voldoende aanwezig is of geschat kan worden ten behoeve van een toetsingskader voor endotoxine. In de tweede plaats is verkend welke andere aspecten bij de ontwikkeling van een toetsingskader voor endotoxinen van belang zijn. Dit betreft keuzen over de middelingsduur waarvoor genormeerd moet worden, keuzen over toegelaten mate van overschrijding, en keuzen over hoe om te gaan met variatie in bronnen.

Endotoxinen, gezondheidseffecten en meetmethoden

Hoofdstuk 2 licht toe wat endotoxinen zijn, welke gezondheidseffecten blootstelling aan endotoxinen kan hebben en hoe endotoxineconcentraties gemeten kunnen worden. Blootstelling aan endotoxinen kan leiden tot het optreden van respiratoire en systemische klachten. De door de Gezondheidsraad afgeleide grenswaarden van 90 EU/m³ voor de werkomgeving en 30 EU/m³ voor de buitenlucht rond veehouderijen worden geacht te beschermen tegen het optreden van acute effecten na relatief kortdurende blootstelling gedurende 4 tot 8 uur. Acute klachten na kortdurende blootstelling worden als het kritische effect gezien. Ook wordt verondersteld dat deze grenswaarden beschermen tegen het optreden van effecten als gevolg van chronische blootstelling. Voor omwonenden van veehouderijen betekent het uitgangspunt van de Gezondheidsraad dat overschrijdingen van de grenswaarde over korte middelingstijden (éénderde dag) in principe niet of beperkt voor mogen komen. Er zijn verschillende methoden beschikbaar om endotoxinen te meten. Dit geldt voor zowel de monsternamen, het in oplossing brengen van het aanwezige endotoxine en de bepaling. Het is raadzaam aan te sluiten bij het Europees gestandaardiseerde protocol voor de bepaling van endotoxine in de werkomgeving, alsook de aanbevelingen van de Gezondheidsraad en de Nordic expert group ten aanzien van stappen in de procedure over te nemen. Bij strikt gebruik van gestandaardiseerde protocollen, die gedetailleerd het proces van monsternamen, extractie en bepaling beschrijven, zijn metingen van endotoxinen voldoende reproduceerbaar.

Stof en endotoxine in stallen

In hoofdstuk 3 is samengevat wat bronnen van stofdeeltjes en endotoxinen in stallen zijn, welke concentraties uit deze bronnen ontstaan, hoe concentraties van endotoxinen samenhangen met die van stof, ammoniak en geur, en welke processen en factoren van invloed zijn op endotoxineconcentraties. Op basis van de beperkt beschikbare informatie lijken vooral mest en in mindere mate stro(oisel) belangrijke bronnen te zijn van het in stallucht aanwezige endotoxine. Onbekend is wat de bijdrage is van andere bronnen van stof, zoals huidschilfers en veertjes.

Informatie over de endotoxineconcentraties in relatie tot deeltjes groottefracties suggereren dat de hoogste endotoxineconcentraties aanwezig zijn in deeltjes groter dan 2–3 µm. Deze deeltjes vormen samen niet alleen de grootste stofmassa, maar bevatten ook een hoger endotoxinegehalte (EU/mg stof) dan kleinere deeltjes. Alhoewel gemiddelde endotoxinegehalten mogelijk niet veel verschillen tussen diercategorieën is de spreiding rond deze gemiddelden groot. Studies die de persoonlijke blootstelling aan endotoxinen van personen werkzaam in bedrijven van verschillende diercategorieën onderzocht hebben, laten ook een grotere spreiding in endotoxineconcentraties zien in vergelijking met concentraties van stof. Stof- en endotoxineconcentraties in stallucht vertonen een duidelijk positieve samenhang. Echter, de grote spreidingen in waarnemingen laten niet toe Endotoxineconcentraties met voldoende betrouwbaarheid uit stofconcentraties te voorspellen. Endotoxineconcentraties in stallen worden beïnvloed door het ventilatiedebiet (meer of minder verdunning), hygiënische aspecten van het houderijsysteem (hokbevuiling, strooiselmest, etc.) en temperatuur (groei van Gram-negatieve bacteriën).

Emissies van stof en endotoxine

In hoofdstuk 4 wordt kennis besproken rondom emissies van endotoxine uit de veehouderij; emissies en emissiereducerende maatregelen bij stallen, emissies bij mestopslag en -overslag, bij mestbehandeling en bij mesttoediening op het land. Er is slechts een handvol studies beschikbaar waarin naast concentraties van endotoxinen in stallucht, tevens debieten zijn gemeten, welke noodzakelijk zijn om emissies te bepalen. Geen van deze studies is volgens een vast meetprotocol zoals beschikbaar voor fijnstof- en ammoniakemissies uitgevoerd, waardoor het niet mogelijk is om op basis hiervan emissieniveaus voor de Nederlandse situatie af te leiden. Variatiebronnen van endotoxine-emissies zijn niet bekend. Het is te verwachten dat deze overeenkomsten vertonen met die van stof. Omdat endotoxinen afkomstig zijn van groeiende organismen, zullen ze naar verwachting ook enkele specifieke endotoxine-eigen variatiebronnen hebben. Er zijn slechts enkele studies voorhanden waarin de verwijdering van endotoxine door een emissiere ductietechniek is vastgesteld. Wel is veel kennis aanwezig t.a.v. reductietechnieken voor fijnstofemissies. Verwijderingsrendementen van deze technieken kunnen echter niet één op één worden toegepast voor endotoxine emissies omdat reductietechnieken deeltjes van verschillende grootte met een verschillende efficiëntie verwijderen en aanwijzingen bestaan dat endotoxinen ongelijk verdeeld zijn over deze verschillende deeltjesgrootteklassen. Naast emissies uit stallen lijken emissies ook te kunnen optreden bij mestopslag en mestoverslag en bij de mestbehandelingsprocessen: composteren, drogen/indikken, nitrificatie/denitrificatie, strippen en de teelt van algen/kroos. Echter, kwantitatieve informatie ontbreekt. Verder bestaan aanwijzingen dat emissies van endotoxinen kunnen optreden bij het uitwerpen van vaste mest op land en in enige mate bij het op de bodem aanbrengen van drijfmest. Onbekend is of emissies optreden bij het uitwerpen of injecteren van drijfmest. Emissies kunnen tevens afkomstig zijn uit de bodem wanneer bodemdeeltjes in de lucht worden gebracht door landbouwvoertuigen. Met aanwending van mest op land wordt een product in het milieu gebracht dat rijk is aan micro-organismen en endotoxinen. Veel is nog onbekend over de overleving en verspreiding van fecale micro-organismen in bodems, hun afbraak tot endotoxinen, de stabiliteit van endotoxinen in de bodem, grondwater en oppervlaktewater, de mogelijke verwaaiing van endotoxinen vanuit bemeste bodems en gewassen, en de eventuele gezondheidsrisico's die daarbij kunnen ontstaan. Emissies uit andere bronnen dan stallen zijn echter van tijdelijke aard en vereisen daardoor een andere aanpak ten aanzien van toetsing.

Endotoxineconcentraties in het algemene milieu en benedenwinds van veehouderijen

In hoofdstuk 5 is samengevat wat concentraties van endotoxinen zijn in de buitenlucht en in de lucht benedenwinds van veehouderijen. Op grond van de in dit hoofdstuk besproken studies kan worden geconcludeerd dat achtergrondconcentraties in het algemeen laag zijn, beneden 1–2 EU/m³. Enkele buitenlandse studies en een Nederlandse studie suggereren dat endotoxineconcentraties in veehouderijgebieden hoger kunnen zijn t.o.v. stedelijke referentiegebieden. In het algemeen worden de hoogste buitenluchtconcentraties gerapporteerd tussen circa mei en september. Benedenwinds van veehouderijbedrijven zijn 'emissiepluimen' van stofdeeltjes en endotoxinen meetbaar. Een dergelijke pluim ontspringt grotendeels in de emissieopening(en) van het stalgebouw en strekt zich benedenwinds uit. Concentraties in de pluim nemen af met de afstand tot het stalgebouw doordat deeltjes sedimenteren, maar vooral door verdunning met relatief schone buitenlucht. Meerdere veehouderijbedrijven binnen een gebied kunnen tezamen tot een regionale verhoging van achtergrondconcentraties leiden die zich uitstrekt buiten directe emissiepluimen van bedrijven. De verspreiding van stofdeeltjes en endotoxinen uit stallen kenmerkt zich door een grote mate van

variatie in tijd en ruimte, waarbij emissieniveaus, uitworpkarakteristieken, weersomstandigheden en omgevingseigenschappen een belangrijke rol spelen. Deze aspecten worden in verspreidingsmodellen t.b.v. vergunningsverlening (V-Stacks voor geur en ISL3a voor fijn stof) gebruikt om de belasting op rond het veehouderijbedrijf liggende punten te berekenen.

Bestaande toetsingskaders en verkenning van een toetsingskader voor endotoxine

In hoofdstuk 6 is verkend hoe een toetsingskader voor endotoxinen ontworpen kan worden. In het buitenland zijn geen formele toetsingskaders gevonden voor emissies van endotoxinen uit stallen, wel bestaat er Britse regelgeving t.a.v. milieueffecten van composteringinrichtingen en een Duitse richtlijn t.a.v. bioaerosolen in relatie tot veehouderij. Voor een te ontwikkelen toetsingskader is het logisch om gebruik te maken van verspreidingsmodellen volgens het Nieuw Nationaal Model (NNM), welke ook ten grondslag liggen aan de vereenvoudigde modellen voor PM10 (ISL3a) en geur (V-Stacks) ten behoeve van vergunningverlening. Hiervoor zijn echter vier zaken nodig. 1) Informatie over representatieve emissiefactoren voor endotoxine voor in Nederland gangbare stalsystemen. 2) Aanpassing van een verspreidingsmodelvariant die rekening kan houden met emissies en daarmee gepaard gaande verspreiding en sedimentatie van grotere deeltjesfracties (>PM10). 3) Aanpassingen aan het verspreidingsmodel die 4 tot 8-uursperioden (i.p.v. 24-uursperioden bij PM10 of 1-uursperioden bij geur) kunnen hanteren en het vaststellen van een percentielwaarde; d.w.z. het percentage van de jaarlijkse 4 tot 8-uursperioden waarbinnen de grenswaarde van de Gezondheidsraad niet wordt overschreden. 4) Het valideren van uitkomsten van de nieuw te ontwikkelen modelvarianten.

Conclusies en aanbevelingen

Hoofdstuk 7 behandelt de conclusies en aanbevelingen. Op dit moment is de kennis over emissies van endotoxinen voor de Nederlandse situatie ontoereikend om direct een toetsingskader te ontwikkelen. Tevens is onvoldoende informatie voorhanden t.a.v. het endotoxinegehalte van stof (dus de hoeveelheid endotoxine per mg stof) in het algemeen en specifiek voor uitgaande stallucht. Door deze onzekerheden is het niet mogelijk om een tussentijds toetsingskader te ontwikkelen op basis van PM10 emissiecijfers in combinatie met een vaste omrekenfactor voor het endotoxinegehalte in PM10. Naast emissiecijfers heeft een toetsingskader voor endotoxine een andere middelingsduur (4 tot 8 uur) dan nu gebruikt wordt voor PM10 of geur en zal toetsing voor endotoxine op een hogere percentielwaarden ingericht moeten worden dan nu gebruikt voor PM10. Oriënterende berekeningen met de nodige aannames lijken erop te wijzen dat huidige toetsingskaders voor geur en fijn stof niet reeds in voldoende mate bescherming bieden tegen te hoge endotoxineniveaus, met name voor pluimveecategorieën. Daarom is het zinvol het ontwerp van een toetsingskader voor endotoxine verder te ontwikkelen. Echter, te kiezen percentielwaardes voor de endotoxinenormering en middelingstijden spelen hierbij een belangrijke rol.

Aanbevolen wordt om op korte termijn brontechnische kennis (t.a.v. emissieniveaus, bijdragen van de verschillende stoffracties aan emissies, de verhouding tussen endotoxine en stof, en de variatie hierin, zowel tussen bedrijven, als binnen een bedrijf in de tijd) te verzamelen voor enkele diercategorieën waarvoor op basis van verkennende berekeningen een toetsingskader voor endotoxine mogelijk strenger zal zijn dan andere reeds bestaande toetsingskaders. Verder wordt aanbevolen om tegelijkertijd aanpassingen voor de verspreidingsmodellen te ontwikkelen waardoor: a) gerekend kan worden met middelingstijden van zowel 4 als 8 uur, b) de verspreiding van deeltjes groter dan 10 µm en de component endotoxine in de berekening kunnen worden meegenomen, en c) het model met verschillende percentielwaarden uitgevoerd kan worden. Hiermee kan binnen circa driekwart jaar inzicht verkregen worden in het effect van een toetsingskader voor endotoxinen in relatie tot reeds bestaande toetsingskaders van fijn stof en geur. Ook wordt inzicht verkregen in de invloed van te maken keuzes op de gemodelleerde concentratieverdelingen van stof en endotoxine, zoals keuzes t.a.v. een bepaalde middelingsduur (4 of 8 uur) en het wel of niet modelleren van verspreiding van stofdeeltjes (met endotoxine) groter dan 10 µm.

De informatie die verkregen wordt uit de aanbevolen acties op de korte termijn zijn noodzakelijk voor een valide onderbouwd toetsingskader op de lange termijn. Uit deze verkenning volgt of een meer gedetailleerde vaststelling van emissiefactoren voor endotoxine (uitbreiding met diercategorieën en staltypen) en aanpassing van emissiemodellering t.a.v. bronvariatie noodzakelijk zijn.

Een overzicht van de specifieke door de opdrachtgevers gestelde vragen zijn in Bijlage C bij dit rapport voorzien van een antwoord.

Summary

Background

In the Netherlands, there is public concern about possible health risks of emissions from animal farms to local residents. This concern is especially related to emissions of particulate matter and endotoxins (i.e., pro-inflammatory cell wall compounds from Gram-negative bacteria) that are released into the ambient air. In a recent advice to the Dutch Minister of Health, Welfare and Sport, the Dutch Health Council has recommended an ambient exposure limit for endotoxins for the general population of 30 endotoxin units (EU) per m³ of air over an averaging time of 4 to 8 hours. The availability of this exposure limit allows the development of a quantitative assessment framework for emissions of endotoxins from animal farms, similar to the existing frameworks in the Netherlands for ammonia, odour and particulate matter.

This report

This literature review explored the lines along which an assessment framework for endotoxins can be developed. An assessment framework for endotoxins will only be realistic and feasible if it can be based upon emission dispersion modelling. A prerequisite for emission modelling is knowledge on levels of endotoxin emissions, or when this information is not available, insight in whether emission data can be reliably based upon other available information, such as PM₁₀ emission levels and the endotoxin content of particulate matter. Therefore, this report summarizes the state of knowledge on emissions and concentrations of endotoxins in relation to animal farming, the distribution of endotoxins in the environment, and possible measures to prevent emissions. In addition, background information on endotoxins and associated health effects are given. Based upon the gathered information, insight is obtained whether available information on endotoxin emissions is sufficient or can be estimated reliably to be used in an assessment framework for endotoxin. In addition, other aspects important in the development of an assessment method for endotoxin are explicated. These include choices about the averaging period, choices about the allowed level of exceedance of an exposure limit and choices regarding how to deal with variation in emission levels.

Endotoxins, associated health effects and their measurement

Chapter 2 of this report starts with an introduction into the background of endotoxins, their effects on health of exposed persons and methods for their measurement. Exposure to endotoxins can lead to both respiratory and systemic health effects which may be the result of either short or long-term exposure. The limit values provided by the Dutch Health Council of 90 EU/m³ for occupational exposure and 30 EU/m³ for ambient air are expected to protect against acute symptoms resulting from short-term exposure periods of 4 to 8 hours. These acute symptoms are considered to be the critical effect of endotoxins. It is assumed that these limit values will also provide protection against the long-term effects of chronic exposure. For people living near farms, the advice of the Health Council would mean that in principle no – or only occasional – exceedances of the ambient limit value may occur. Several methods are available for measurement of endotoxins. It is recommended to follow the European standardized protocol for measurement of endotoxins in the workplace as well as the recommendations of the Dutch Health Council and the Nordic expert group regarding extraction and assay characteristics. When standardized protocols are used, in which processes of sampling, extraction and assay are described in detail, results of endotoxin measurements are sufficiently reliable.

Particulate matter and endotoxin inside animal houses

Chapter 3 summarizes the existing knowledge on sources of particulate matter and endotoxins in animal houses, concentrations, associations between endotoxin concentrations and other components like PM, ammonia, and odour, and the factors and processes that are known to affect concentrations. On the basis of a limited number of studies, faecal matter and litter seem to be the main sources of endotoxins in the air of animal houses. For some sources of particulate matter, like skin flakes or feathers, the contribution to airborne endotoxin concentration is unknown. Information on endotoxin concentrations in relation to particle size suggests that the majority of endotoxin in air is present in the fraction of particles with aerodynamic diameters of 2–3 µm and larger. These particles are already

known to make up the major part of particle mass in air, and they also have a greater endotoxin content (in EU/mg of particulate matter) than smaller particles. Despite the limited differences in average endotoxin content of PM between different animal categories, the variation of individual measurements around the mean content is large. Studies into personal exposure in subjects working in the animal production sector have also shown a large variability in endotoxin concentrations in comparison to the variation in PM concentrations. Concentrations of PM and endotoxins are clearly positively correlated, but the large variability of observations around these trends do not allow reliable estimation of endotoxin concentrations from PM concentrations. Endotoxin concentrations inside animal houses are influenced by the ventilation exchange rate (a dilution effect), hygienic aspects of the housing system (e.g., pen fouling in pigs or the presence of litter floors with dry, crumbly manure), and temperature (affecting growth of Gram-negative bacteria).

Particulate matter and endotoxin emission levels

Chapter 4 describes the existing knowledge on emissions and mitigation of emissions from animal houses, emissions from manure storages and manure handling, emissions from manure treatment, and emissions from the field application of manure. Few studies determined ventilation rates parallel with endotoxin levels in animal houses in order to establish emission rates. None of the available studies used measurement protocols like existing ones for ammonia, odour, and PM. Consequently, it is not possible to derive reliable emission rates from these studies. Sources of variation in endotoxin emissions are largely unknown. It is expected that endotoxin emissions exhibit variation partially similar to PM. However, since endotoxins originate from growing organisms (Gram-negative bacteria), it is expected that endotoxin emissions will also show specific sources of variation. Only few studies exist on the mitigation of endotoxin emissions from animal production. Much more information is available on mitigation techniques for PM. Yet, removal efficiency figures for PM₁₀ or PM_{2.5} cannot be directly applied to endotoxin emissions, as reduction techniques are known to remove particles with different aerodynamic diameters with different efficiencies and indications exist that endotoxin concentrations are unequally distributed over particle size fractions. Besides animal houses, emissions of endotoxins are likely to occur in manure storages and during manure handling, as well as in the following manure treatment processes: composting, drying/concentrating, nitrification/denitrification, ammonia stripping, and the cultivation of algae and weeds. However, data on emission levels from these processes are scarce. Based on a very limited number of studies so far, emissions of endotoxins may also occur during spreading of solid manure on fields, and to some extent during the application of liquid manure directly onto the soil. Endotoxins that are present in soils may also emit when soil is agitated by the movement of agricultural vehicles, regardless whether manure is applied or not. With the application of manures onto fields, a substance is released into the environment that contains many micro-organisms and a substantial amount of endotoxins. However, much is still unknown on the survival and spread of faecal micro-organisms in soils, ground water and surface water, the potential airborne dispersion of endotoxins from fertilized soils and crops, and the health risks that may result from these issues. These emission sources other than animal houses show a periodical or intermittent emission pattern, and therefore require a different approach with respect to an assessment framework.

Aerial endotoxin concentrations in the general environment and downwind of animal farms

Chapter 5 deals with the concentrations of endotoxins normally present in ambient air and in the air downwind of animal houses. The studies discussed in this chapter show that ambient (background) concentrations are in general low, below 1–2 EU/m³. Few studies conducted abroad and one Dutch study suggest that ambient endotoxin concentrations are higher in areas with a high density of animal farms than in reference areas, like urban cities. Highest ambient endotoxin concentrations are reported from May through September. Downwind of animal farms, 'emission plumes' of PM and endotoxins are detectable. Such plumes originate mainly from the exhaust outlet(s) of animal houses and spread downwind. Concentrations in these plumes decrease with the distance from their point of release due to dilution of exhaust air with clean ambient air, and due to settling of particles by deposition. The presence of multiple animal farms within a certain area may however give rise to regionally elevated ambient concentrations of PM and endotoxins, outside the direct emission plumes from individual farms. The ambient distribution of PM and endotoxins is characterized by a large degree of variation, both temporally and spatially, caused by variations in emission levels, exhaust air characteristics, meteorological conditions, and terrain features. These aspects are currently used in the Netherlands in dispersion models for environmental permit granting (like V-Stacks for odour and ISL3a for PM₁₀) to estimate the immission at sensitive locations (like residential houses) near farms.

Existing frameworks and exploration of a framework for endotoxin

In Chapter 6, the design of an assessment framework for endotoxin emissions from animal production is explored. No official assessment frameworks for endotoxin exist in other countries, however legislation of environmental influences of composting facilities do exist in the UK, and in Germany a directive on bio-aerosol emissions from animal houses is available. Both do not apply to endotoxin. It is logical to base the development of an assessment framework for endotoxin on the available Dutch dispersion model (the New National Model; NNM), which is also the basis of the simplified forms for legislation purposes: ISL3a for PM10 emission and V -Stacks for odour emission from animal houses. However, before implementation, four main modifications and actions are needed. Firstly, representative and up to date emission factors need to be established for animal housing systems that are likely to be responsible for a major part of total emission from animal production. Secondly, a dispersion model variant needs to be developed that is able to deal with emissions, dispersal and sedimentation of larger (i.e., >PM10) particles. Thirdly, the assessment framework must be based on 4- to 8-hour averaging periods which should be implemented in dispersions models. Also, a percentile value must be established; i.e., the percentage of all annual 4 to 8 -hour periods during which the ambient limit value should not be exceeded. Finally, the model variant and the emission factors should be validated based on measured endotoxin concentrations in the vicinity of animal farms.

Conclusions and recommendations

Chapter 7 provides the conclusions and recommendations. At this time, the knowledge on the emissions of endotoxins for the Dutch situation is not sufficient to enable development of a temporary assessment framework for endotoxin. Also, there is insufficient information on the endotoxin content of particulate matter (the amount of endotoxin per mg of particulate matter) in general, and for the exhaust air of animal houses in particular. These uncertainties do not allow development of an assessment framework based on PM10 emission levels in combination with a conversion factor for the endotoxin content in PM. Besides the need for endotoxin emission rates, we identified that the framework for endotoxin will require an averaging period which is different from the ones in use for PM10 or odour and that legislation for endotoxin should be based on higher percentiles than currently applied for PM10. More information is needed to fully acknowledge the implications of an assessment framework for endotoxin. Exploratory calculations with the necessary assumptions suggest that existing frameworks for odour and PM10 do not sufficiently protect against high endotoxin levels, especially for poultry farms. Therefore, it makes sense to further develop an assessment framework for endotoxin emissions. However, choices in percentile-value to be used and averaging times may play an important role.

To acknowledge the level of impact of an assessment framework, it is recommended that at short notice necessary information is obtained on the emission source level (emission rates, endotoxin content in PM, the distribution of endotoxin over particle size fractions, and variations between animal houses and in time within a house) for those animal categories that are likely to be restricted by the endotoxin framework. Furthermore, it is recommended to further develop dispersions models which allow: a) performing calculations with averaging times of 4 and 8 hour, b) evaluation of emission and dispersion of particles larger than 10 μm , and c) output of various percentile values. These modifications will provide insight in the impact of an assessment framework for endotoxins in relation to existing assessment frameworks for particulate matter and odour within nine months. This will also allow evaluation of the effects of certain modelling choices on resulting exposure distributions, such as different averaging times and the dispersion of particles (with endotoxin) larger than 10 μm .

This information obtained on the short term, is needed to underpin a valid assessment framework for the long term. Furthermore, this will identify whether a more detailed determination of emission rates for endotoxin is needed (e.g., more animal categories or housing types) as well as further adjustments of dispersion models taking into account other observed knowledge gaps like implementation of emission source variation.

An overview of the specific research questions formulated by the financier prior to this project in conjunction with concise answers to these questions is given as Appendix C to this report.

1 Inleiding

Aanleiding

In Nederland bestaan een aantal regio's met hoge veedichtheden in combinatie met een relatief hoge bevolkingsdichtheid, met name in het zuiden en het oosten van het land. Deze combinatie van hoge veedichtheid en bevolkingsdichtheid is uniek. In deze gebieden komen relatief veel bedrijven voor met grote aantallen dieren, voornamelijk als gevolg van specialisatie en schaalvergroting sinds de jaren zestig van de vorige eeuw. Deze schaalvergroting en intensivering kan aanleiding geven tot maatschappelijke onrust als gevolg van transportbewegingen van voer, eieren of dieren, door geurhinder, of doordat stalgebouwen als niet passend in het landschap worden ervaren. Daarnaast bestaat in sommige regio's maatschappelijke ongerustheid over mogelijke gezondheidsrisico's van veehouderijbedrijven voor omwonenden. Deze ongerustheid bestaat met name t.a.v. stofdeeltjes, micro-organismen en endotoxinen (celwandresten van Gram-negatieve bacteriën) die met de ventilatielucht van stallen worden uitgestoten.

In het licht van deze problematiek is in Nederland eerder een aantal rapportages verschenen die kort worden toegelicht.

In een eerste rapport van Dusseldorp et al. (2008) is een literatuurverkenning uitgevoerd naar mogelijke effecten van fijn stof, bacteriën en endotoxinen op de gezondheid van werkenden in stallen en van de mensen die rondom stallen wonen. De auteurs concluderen dat op enkele tientallen tot honderden meters van veehouderijen concentraties van deze componenten verhoogd kunnen zijn, maar dat onbekend is of deze niveaus kunnen leiden tot gezondheidseffecten bij omwonenden. In meerdere studies die in het rapport worden geciteerd zijn effecten op de gezondheid van werknemers geconstateerd. Het gaat daarbij vooral om effecten op het ademhalingsorgaan door blootstelling aan endotoxinen.

Kornalijnslijper et al. (2008) brachten in hetzelfde jaar kansen en bedreigingen in beeld van schaalvergroting in de veehouderij t.a.v. infectierisico's voor vier specifieke micro-organismen uit de veehouderij die ziekteverwekkend kunnen zijn voor mensen. Op grond hiervan geven de auteurs aanbevelingen vanuit een volksgezondheidskundig perspectief, zoals het opstellen van een gezondheidseffectrapportage bij de bouw van nieuwe stallen.

In 2011 is een inventariserend onderzoek afgerond naar mogelijke effecten van intensieve veehouderijbedrijven op de gezondheid van omwonenden; het zogenaamde IVG-onderzoek (Intensieve Veehouderij en Gezondheid) (Heederik et al., 2011). Gezondheidsrisico's zijn beoordeeld aan de hand van door huisartsen geregistreerde gegevens, daarnaast zijn op beperkte schaal stofmetingen en metingen naar micro-organismen uitgevoerd. Uit dit onderzoek is gebleken dat omwonenden van intensieve veehouderijbedrijven blootstaan aan verhoogde concentraties van fijn stof, endotoxinen en micro-organismen. Er werden echter weinig verschillen gevonden in de gezondheid van bewoners van intensieve veehouderijgebieden in vergelijking tot een referentiepopulatie uit andere plattelandsgebieden. Astmatici en mensen met COPD¹ hadden meer exacerbaties² wanneer ze woonden in gebieden met veel intensieve veehouderij in vergelijking met gebieden zonder intensieve veehouderij. Verder werd een verhoging gevonden van het aantal longontstekingen rondom geitenbedrijven en pluimveebedrijven. Naast negatieve effecten werden ook aanwijzingen voor beschermende effecten gevonden.

Maassen et al (2012) bestudeerden de mogelijkheid van normering van de bedrijfsomvang en de afstand tussen veehouderijen en omwonenden ter verlaging van infectierisico's voor een zestal zoönosen. De auteurs concluderen dat algemene afstandsadviezen ter bescherming van omwonenden niet gegeven kunnen worden en dat voor specifieke zoönosen (met uitzondering van Q-koorts) onvoldoende onderzoek voorhanden is om onderbouwde uitspraken te kunnen doen.

¹ COPD: chronic obstructive pulmonary disease

² Exacerbatie: term gebruikt voor verergering van ziekte of symptomen van een ziekte

In een recent advies aan de minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport concludeert de Gezondheidsraad dat studies naar relaties tussen blootstelling en gezondheidseffecten bij omwonenden van veehouderijen schaars zijn en dat de huidige stand der kennis de ontwikkeling van één kwantitatief beoordelingskader t.a.v. volksgezondheidsrisico's daarom niet toelaat (Gezondheidsraad, 2012). Geadviseerd wordt langs kwalitatieve, beleidsmatige beoordelingskaders te werken die op lokaal niveau (GGD, gemeente) en op basis van maatwerk tot stand komen. Een uitwerking van een dergelijk beoordelingskader is onlangs verschenen (Fast and Nijdam, 2013). Het hanteren van emissiegerelateerde minimumafstanden kunnen bij een dergelijk beoordelingskader naar mening van de Gezondheidsraad nuttig zijn, evenals het verder reduceren van emissies van fijn stof en geur, gebruik makend van reeds bestaande beoordelingskaders voor deze componenten. Tot slot wordt als grond voor een beoordelingskader voor endotoxinen een gezondheidkundige advieswaarde voor de algemene bevolking voorgesteld van 30 EU/m³ (EU; endotoxin units) (Gezondheidsraad, 2012).

Vraagstelling

Met het beschikbaar komen van een gezondheidkundige advieswaarde voor endotoxinen is een eerste basis ontstaan voor het ontwikkelen van een kwantitatief toetsingskader voor emissies van endotoxinen uit de veehouderij, zoals deze reeds bestaan voor ammoniak, geur en fijn stof. Als reactie op het voornoemde advies van de Gezondheidsraad is op 14 juni 2013 een kabinetsbrief verschenen. Hierin wordt aangegeven dat de Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu de gezondheidkundige advieswaarde nader zal uitwerken en vastleggen zodat deze ter bescherming van de gezondheid van omwonenden van veehouderijen kan worden toegepast bij het verlenen van de omgevingsvergunning milieu. Naast een gezondheidkundige advieswaarde dient een toetsingskader een instrumentarium te bevatten waarmee de blootstelling in de omgeving t.g.v. veehouderijactiviteiten in kaart wordt gebracht, zodat getoetst kan worden of de advieswaarde ter hoogte van een toetsingspunt overschreden wordt. Naar analogie van het beoordelingskader voor fijn stof, ammoniak en geur kan dit instrumentarium bestaan uit een verspreidingsmodel waarin emissiefactoren zijn opgenomen. Het ontwikkelen van een dergelijk instrumentarium roept echter een groot aantal vragen op die beantwoording vergen alvorens tot ontwikkeling kan worden overgegaan. Voorafgaand aan dit onderzoek zijn deze vragen door de opdrachtgever in kaart gebracht (bijlage C). Aan Wageningen UR Livestock Research en het Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS) van de Universiteit Utrecht is verzocht aan de hand van de ontstane vragen een oriënterend literatuuronderzoek uit te voeren.

Doelstelling

Met dit onderzoek wordt in de eerste plaats beoogd de stand van kennis samen te vatten rondom concentraties en emissies van endotoxinen in de veehouderij, hun verspreiding naar de omgeving, bijbehorende gezondheidseffecten voor omwonenden en mogelijke maatregelen om emissies te voorkomen. In de tweede plaats wordt beoogd om op basis van de beschikbare kennis het ontwerp van een toetsingskader te verkennen. Daarbij gaat het er om hoe het toetsingskader eruit moet zien en welke mogelijkheden en onmogelijkheden er bestaan rondom het ontwerpen van een toetsingskader.

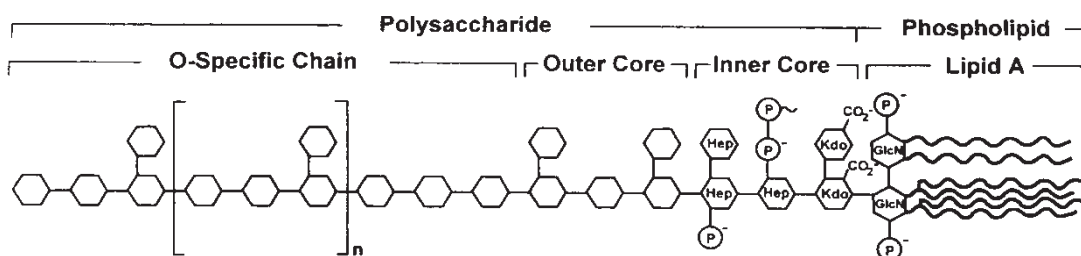
Opbouw van dit rapport

In hoofdstuk 2 wordt toegelicht wat endotoxinen zijn, welke gezondheidseffecten endotoxinen kunnen hebben op blootgestelden en hoe endotoxinen gemeten kunnen worden. In hoofdstuk 3 wordt samengevat wat de bronnen van stofdeeltjes en endotoxinen in stallen zijn, welke concentraties uit deze bronnen ontstaan, hoe concentraties van endotoxinen samenhangen met die voor stof, ammoniak en geur, en welke processen en factoren van invloed zijn op endotoxineconcentraties. In hoofdstuk 4 wordt de bestaande kennis besproken rondom emissies van endotoxine uit de veehouderij; emissies en emissiereducerende maatregelen bij stallen, emissies bij mestopslag en -overslag, bij mestbehandeling en bij mesttoediening op het land. In hoofdstuk 5 wordt samengevat wat concentraties van endotoxinen zijn in de buitenlucht en in de lucht benedenwinds van veehouderijen. In dit hoofdstuk wordt verder aandacht geschonken aan de verspreidingskarakteristieken van endotoxinen via lucht. In hoofdstuk 6 wordt verkend hoe een toetsingskader voor endotoxinen ontworpen kan worden. In hoofdstuk 7 worden de conclusies en aanbevelingen gegeven. In Bijlage C bij dit rapport ten slotte, worden de door de opdrachtgevers gestelde vragen beantwoord.

2 Endotoxinen: achtergrondinformatie

2.1 Wat zijn endotoxinen?

Endotoxinen zijn een onderdeel van de buitenmembraan van Gram -negatieve bacteriën en zogenaamde cyanobacteriën of blauwalgen (Rietschel et al., 1990). Endotoxinemoleculen komen vrij bij het afsterven van deze organismen. Het zijn grote moleculen, die gebonden aan bacterieresten en stofdeeltjes of als waterdeeltje met daarin endotoxine, zich in de omgeving kunnen verspreiden. Endotoxinen bestaan uit een lipopolysaccharide (LPS) molecuul, dat bestaat uit polysaccharide ketens verbonden met een lipide deel (Figuur 1). Aan het LPS molecuul kunnen eiwitmoleculen of lipiden gebonden zijn, en het LPS met deze moleculen samen wordt endotoxine genoemd. Met de term wordt dus het agglomeraat bedoeld. Het lipide deel, het Lipide A, bestaat uit een lange keten vetzuren en is verantwoordelijk voor de toxische eigenschappen van endotoxine. De ketenlengte kan verschillen tussen endotoxinen afkomstig van verschillende soorten bacteriën. Dit verklaart voor een groot deel de verschillen in toxiciteit van endotoxinen afkomstig van verschillende bacteriën (Gezondheidsraad, 1998, 2010; Todar, 2014).



Figuur 1 De structuur van een LPS molecuul, het toxine dat aanwezig is in de celwand van een Gram-negatieve bacterie

2.2 Het vóórkomen van endotoxinen

Endotoxinen komen in de meeste gevallen gebonden aan stofdeeltjes of in oplossing in water voor. Endotoxinen aanwezig in de omgeving zijn afkomstig van verschillende Gram -negatieve bacteriën. Een aantal belangrijke, veel voorkomende en sterk verschillende voorbeelden van bronnen van endotoxinen en daarmee samenhangende omgevingen waarin endotoxinen voorkomen zijn:

- bacteriën die op planten of op productiegewassen groeien en bij de oogst of verwerking van het gewas vrijkomen (Douwes et al., 2003; Spaan et al., 2006). In de veehouderij kan als gevolg hiervan endotoxine afkomstig zijn uit voeder;
- bacteriën die afkomstig zijn uit ontlasting (kinderdagverblijven, mogelijk humane gezondheidszorg of ouderenzorg) of mest (veehouderij) (Douwes et al., 2003; Liebers et al., 2006) die zich gebonden aan stofdeeltjes via de lucht verspreiden (Spaan et al., 2006);
- bacteriën die afkomstig zijn van de huid of vacht van mensen en dieren. Op plaatsen waar veel mensen bij elkaar komen (scholen, peuterspeelzalen, kinderdagverblijven) kunnen deze bacteriën zich in de omgeving verspreiden (Rullo et al., 2002).

Endotoxinen komen meestal vrij als een bacterie sterft en oplost en de dode delen zich verspreiden door luchtstroming of bij bewerking van endotoxine bevattend materiaal. Dit is vooral bekend van blootstellingen in de werkomgeving. Blootstelling aan endotoxinen is hierbij in eerste instantie altijd in verband gebracht met blootstelling aan wat wel "organisch stof" werd genoemd; stof van plantaardige of dierlijke oorsprong. Daarbij wordt dan gedacht aan allerlei processen die met agrarische activiteit in verband worden gebracht en contact met plantaardige of dierlijke materialen. Maar juist het feit dat

ook relevante blootstelling voorkomt in bijvoorbeeld publieke ruimten zoals scholen geeft aan dat dit niet altijd het geval is. Dus overall waar sprake kan zijn van blootstelling aan bacteriën of groei van bacteriën is potentieel blootstelling aan endotoxinen te verwachten. Daarnaast bestaat ook kans op indirecte blootstelling, als gevolg van verspreiding van endotoxinen uit een sterke bron naar de nabijge omgeving, bijvoorbeeld uit veehouderijen of composteerinstallaties. Deze laatste vorm van verspreiding, vanuit een centrale bron, staat in deze rapportage centraal (Heederik et al., 2011; Pankhurst et al., 2011; Thorne et al., 2009).

2.3 Gezondheidseffecten van endotoxinen

Het in deze paragraaf gegeven overzicht is voor een belangrijk deel gebaseerd op de evaluaties van endotoxinen van de Gezondheidsraad (Gezondheidsraad, 1998, 2010), aangevuld met recenter verschenen onderzoek. De evaluatie van de Gezondheidsraad heeft betrekking op beroepsmatige blootstelling aan endotoxinen. Studies naar blootstelling in binnen- en buitenmilieu worden hierin niet besproken. Deze worden in deze paragraaf kort aangestipt. Daarnaast hebben endotoxinen niet alleen negatieve effecten. Blootstelling aan endotoxine wordt ook in verband gebracht met positieve effecten, met name worden endotoxinen in verband gebracht met beschermende effecten voor wat betreft de ontwikkeling van sensibilisatie en allergie. Ook deze effecten worden, voor zover relevant, kort besproken.

2.3.1 Gezondheidseffecten: lokaal en systemisch, acuut en chronisch

Geïnhaleerd endotoxine kan leiden tot lokale respiratoire effecten en ook tot systemische effecten. Direct na inademing van endotoxinen kunnen zich bij mensen de volgende verschijnselen voordoen: droge hoest, kortademigheid met vermindering van de longfunctie, koorts en algehele malaise. Enkele uren later kunnen benauwdheid, hoofdpijn en gewrichtsklachten optreden. De symptomen lijken op griepachtige symptomen. Geïnhaleerde endotoxinen veroorzaken een ontstekingsreactie in de long die samenhangt met de aanwezigheid van een bepaald type cellen in de longen, zogenaamde neutrofielen. Tegenwoordig is een groot deel van het achterliggend mechanisme bekend en het aangeboren of 'innate' immuunsysteem speelt een belangrijke rol. Dit deel van het immuunsysteem bestaat uit receptoren op cellen die geïnhaleerde micro-organismen direct herkennen en opruimen. Deze receptoren (Toll-receptoren) herkennen moleculen uit de celwanden van micro-organismen. Endotoxinen worden ook herkend door dit deel van het immuunsysteem en deze "herkenning" zet een cascade van reacties in gang, met ontstekingsreacties en klachten als gevolg. Vermoedelijk worden endotoxinen niet opgenomen in de bloedcirculatie, maar zeker is dit niet. Naast effecten op de luchtwegen kunnen na inhalatie ook systemische effecten optreden. Verondersteld wordt dat de systemische effecten optreden doordat signaalstoffen die bij de ontstekingsreactie een rol spelen, zogenaamde cytokinen, in de bloedcirculatie terechtkomen. De gezondheidseffecten worden snel na de eerste blootstelling, binnen enkele uren, manifest. Acute effecten op de luchtwegen worden daarom als het kritische effect van endotoxinen beschouwd.

Er zijn geen formele grenswaarden of concentraties gedefinieerd voor de verschillende effecten die op kunnen treden na endotoxineblootstelling. Als globale richtlijn wordt wel de volgende indeling gesuggereerd (Rylander, 1997):

- ontstekingsreacties van de luchtwegen en acute luchtwegklachten: vanaf 100 EU/m³;
- systemische effecten (temperatuursverhoging): 1000 EU/m³;
- organisch stof toxisch syndroom (koorts, rillingen, gewrichtspijn, malaise): vanaf 2000 EU/m³.

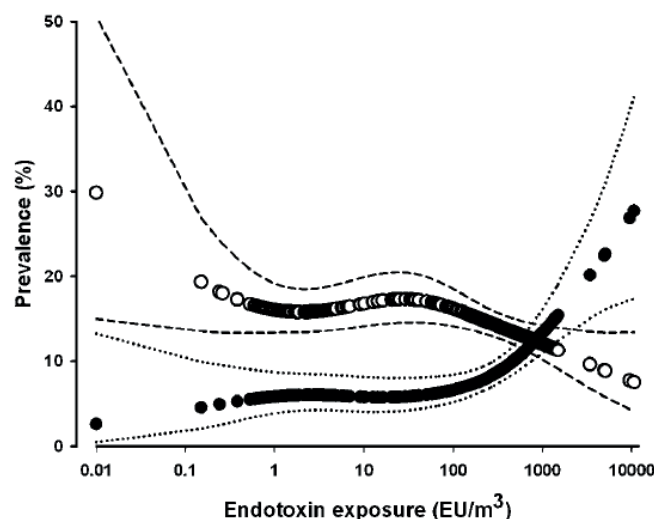
De Gezondheidsraad geeft in haar evaluaties aan dat de kennis over effecten van endotoxine op een breed palet van wetenschappelijke informatie is gebaseerd; dierexperimentele studies, experimentele studies bij mensen (waarbij endotoxine werd geïnjecteerd of geïnhaleerd) en epidemiologische studies. In de eerste studies naar effecten van endotoxinen, die bijvoorbeeld werden uitgevoerd bij katoenwerkers die een hoge blootstelling hadden door contaminatie van katoenpluis met bacteriën, werden de acute effecten beschreven door naar veranderingen in longfunctie te kijken voor en na de

(beroepsmatige) blootstelling. Onduidelijk was op dat moment wat het mechanisme was dat leidde tot de effecten. In recentere studies is een groter arsenaal gezondheidsparameters beschikbaar gekomen. Op basis van deze studies, vaak experimentele studies onder studenten of beroepsmatig blootgestelden, is duidelijk geworden dat kortdurende blootstelling (maximaal enkele uren) een acute ontstekingsreactie veroorzaakt. Dit is vastgesteld door in bloed/serum van blootgestelden of in vloeistof verkregen door een long- of neusspoeling (BAL: bronchial alveolar lavage, en NAL: nasal lavage) onder andere aanwezigheid van verschillende celtypen vast te stellen en cytokines te meten. Bekend is dat na enkele dagen blootstelling de omvang van de effecten als gevolg van blootstelling aan endotoxinen afnemen en dat een zekere mate van tolerantie ontwikkelt. Dit is bijvoorbeeld ook waargenomen bij beroepsmatig blootgestelden die gedurende een week waren blootgesteld. Op de eerste dag worden de grootste dalingen in longfunctie waargenomen en worden de meeste symptomen ervaren. Op de tweede en volgende dagen zijn de veranderingen in longfunctie geringer en zijn de symptomen minder duidelijk. De ontwikkelde tolerantie is echter ook snel weer verdwenen. Na een blootstellingsvrij weekend of een korte vakantie begint de cyclus weer opnieuw en worden op de eerste dag weer de grootste longfunctiedalingen gevonden, enzovoort.

Parallel aan de effecten die optreden na kortdurende blootstelling is in meerdere studies ook een effect van chronische blootstelling gevonden. Beroepsmatig hoog blootgestelden, waaronder veehouders, blijken een verlaagde longfunctie te hebben in voornamelijk dwarsdoorsnede studies. Er zijn enkele longitudinale studies uitgevoerd en in deze studies wordt onder verhoogd endotoxine blootgestelden een versnelde longfunctiedaling gevonden (Christiani et al., 2001 ; Vogelzang et al., 2000).

2.3.2 Beschermende effecten van endotoxineblootstelling

Recenter onderzoek suggereert dat blootstelling aan endotoxinen mogelijk beschermt tegen de ontwikkeling van atopie en hooikoorts (Braun-Fahrlander et al., 2002). Atopie wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van antilichamen (Immuunglobuline E; IgE) tegen algemeen in het milieu voorkomende allergenen (huisstofmijt, pollen, grassen, kat en hond). Ongeveer 30–40% van de Nederlanders is atopisch. Een deel van deze mensen kan als gevolg hiervan een allergie ontwikkelen tegen de milieuallergenen waartegen antilichamen aanwezig zijn. Blootstelling aan het allergeen leidt dan tot neus-, oog- en luchtwegklachten, en in het ergste geval astma. Hooikoorts (allergie tegen grassen en pollen) is een specifieke vorm van allergie, die zich vooral manifesteert als blootstelling aan allergenen hoog is in het seizoen dat grassen en bomen stuifmeel en pollen afgeven.



Figuur 2 Toename van bronchiale klachten met toenemende endotoxineconcentratie (gesloten bolletjes) en afname van het vóórkomen van hooikoorts (open bolletjes) in een studie waarin meerdere populaties zijn samengevoegd. De toename in het voorkomen van bronchiale klachten wordt zichtbaar vanaf endotoxineniveaus rond de 80–100 EU/m³ (Basinas et al., 2012)

De eerste waarnemingen dat endotoxine mogelijk tegen ontwikkeling van atopie en hooikoorts beschermt zijn afkomstig van studies onder kinderen die zijn opgegroeid op een boerderij, waar door contact met dieren en gewassen regelmatig blootstelling aan micro-organismen en als gevolg daarvan onder meer endotoxinen kan plaatsvinden. In dit type studies, waarin naar de endotoxine blootstelling is gekeken in de woonomgeving wordt het endotoxine gehalte van matras- of vloerstof in de woning gekeken en uitgedrukt per gram stof of per m² oppervlak. De gemeten niveaus kunnen niet direct worden vergeleken met studies uit de werk omgeving waar de concentratie per m³ lucht wordt uitgedrukt. Later is het beschermende effect van endotoxine blootstelling ook in stedelijke populaties vastgesteld. Enkele studies waarin endotoxineconcentraties in de lucht in de woning zijn gemeten geven aan dat sprake is van relatief lage niveaus (<10 EU/m³) (Noss et al., 2008). Er was sprake van 48-uursgemiddelden en gedurende bepaalde activiteiten in de woning is waarschijnlijk van hogere blootstelling sprake. In een Amerikaans studie werden in woningen endotoxineconcentraties gemeten in 20 woningen in een periode van 14 maanden tussen de 0,02 en 19,8 EU/m³ (Park et al., 2000). Vermoedelijk zijn concentraties in de woning dus relatief laag.

Dit beschermende effect blijkt ook op te treden bij volwassenen, onder meer bij veehouders, na (relatief hoge) beroepsmatige blootstelling aan endotoxinen (Portengen et al., 2005; Smit et al., 2010). Echter, in de studies waarin beschermende effecten worden gevonden worden, voor zover onderzocht, ook meer astmatische klachten gevonden door blootstelling aan endotoxine (Braun-Fahrlander et al., 2002; Portengen et al., 2005; Smit et al., 2010). Echter, deze klachten hebben een niet-atopische achtergrond, hetgeen wil zeggen dat deze niet worden gevonden bij mensen met atopie; antilichamen tegen algemeen in het milieu voorkomende allergenen. De toename van luchtwegklachten met toenemende endotoxine blootstelling in de populatie gaat ook gepaard met een toename van objectieve verschijnselen zoals een toename van personen met verhoogde reactiviteit van de luchtwegen (Smit et al., 2010). Het beschermende effect zet de aanwezigheid van negatieve effecten van endotoxine niet in een ander perspectief. In een analyse van meerdere studies van beroepsmatig blootgestelden blijkt duidelijk dat de afname van atopie met toenemende endotoxine blootstelling parallel loopt aan een toename van bronchiale klachten (Figuur 2) (Basinas et al., 2012).

2.3.3 Verschillen tussen personen in respons na blootstelling aan endotoxinen

Bekend is dat verschillen in individuele gevoeligheid bestaan voor endotoxine onder volwassenen. In een studie uit de Verenigde Staten onder 72 gezonde vrijwilligers bleken 8 personen sterke longfunctiedalingen te hebben na inhalatie van een hoge dosis endotoxine ('hyper-responders'), terwijl 11 personen reageerden met een marginale respons ('hypo-responders') (Kline et al., 1999). Dit verschil in reactiviteit na blootstelling bleek reproduceerbaar en bleek een genetische basis te hebben (Arbour et al., 2000). Ook in populatiestudies blijken verschillen in gevoeligheid voor endotoxine te bestaan (Smit et al., 2011; Smit et al., 2009). Er zijn meer studies waarin naar verschillen in individuele gevoeligheid is gekeken. Volledigheid is niet nagestreefd, de problematiek is met de aangehaalde literatuur voldoende geïllustreerd.

2.3.4 Gezondheidseffecten door endotoxinen rond veehouderijen

Er zijn slechts enkele studies uitgevoerd naar endotoxinen afkomstig van veehouderijbedrijven in het buitenmilieu en de samenhang met respiratoire klachten en longfunctie van omwonenden (O'Connor et al., 2010). De Gezondheidsraad heeft ook aangegeven in haar advies over intensieve veehouderij (Gezondheidsraad, 2012) dat veel van de studies in beperkte mate informatief zijn. Met name de studies uit Duitsland en de Verenigde Staten zijn relevant.

In de studie uit de groep van Mw. Dr. K. Radon, uitgevoerd in Duitsland, werd een toename van astmatische klachten gevonden in relatie tot het aantal veehouderij stallen rond de woning. De longfunctie nam af met toenemende aantallen stallen rond de woning (Radon et al., 2007; Schulze et al., 2011). Als onderdeel van deze studie zijn endotoxineniveaus gemeten in de achtertuinen van woningen van deelnemers aan de gezondheidseffectenstudie (Schulze et al., 2006). Er werden concentraties gevonden tussen de 0 en 23 EU/m³, hoger dan verwacht in een stedelijke omgeving,

maar de studie was indicatief van opzet, er was slechts een beperkt aantal metingen beschikbaar en de endotoxineniveaus zijn niet direct geassocieerd met de gezondheidseffecten. Daardoor is niet duidelijk of de gezondheidseffecten die in deze studie zijn waargenomen ook samenhangen met de endotoxineconcentraties in de directe omgeving van de woningen.

In een studie in de VS onder een panel van 101 deelnemers zijn herhaald klachten geregistreerd en is de longfunctie gemeten (Schinasi et al., 2011). Als onderdeel van deze studie zijn 1711 herhaalde endotoxinemetingen uitgevoerd gedurende 12 uur in 16 'communities'. Helaas zijn de gemeten niveaus met onvoldoende achtergrond informatie gerapporteerd, en zijn de resultaten uitgedrukt in endotoxine units (EU) per mg PM10 stof en niet als concentratie in EU per m³ lucht. Het gemiddelde niveau was 38,5 EU/mg. Het niveau in de 'community' met de laagste niveaus was 20,0 EU/mg, in de 'community' met het hoogste niveau 88,0 EU/mg. De deelnemers werd gevraagd dagelijks tweemaal buiten te gaan zitten en klachten te registreren. Een toename van het endotoxinegehalte in PM10 in de lucht ging gepaard met een toename van klachten van keel en luchtwegen. De uitkomsten van deze studie zijn lastig te interpreteren omdat de blootstelling op semi-experimentele wijze tot stand is gekomen i.p.v. als onderdeel van het normale leefpatroon.

2.3.5 Grenswaarden voor endotoxine

In studies onder werknemers is het gebruikelijk dat de blootstelling aan stof of endotoxine met persoonlijke stofmonsters wordt vastgesteld. Hiervoor wordt draagbare apparatuur gebruikt. De endotoxine blootstelling wordt uitgedrukt in Endotoxine Units (EU)/m³. De acute effecten worden waargenomen bij concentraties van 90 EU/m³ en hoger. De Gezondheidsraad heeft voor de afleiding van de grenswaarde gebruik gemaakt van een experimentele studie die is uitgevoerd door het National Institute for Occupational Health and Safety van het Center for Disease Control (NIOSH, CDC). Per sessie werden 24-35 gezonde proefpersonen geselecteerd. De deelnemers hadden geen luchtwegaandoeningen (astma, COPD), gebruikten geen geneesmiddelen en blootstelling in de werkomgeving die de luchtwegrespons in het experiment mogelijk zou kunnen beïnvloeden. Proefpersonen met mogelijke gevoeligheid voor endotoxinen zijn gedurende 6 uur in een ruimte blootgesteld aan endotoxine houdend katoenstof. Er werden verschillende katoenstof batches gebruikt met een verschillend endotoxine gehalte. In totaal werden 108 sessies gehouden. De longfunctie werd voor en na het inhalatie experiment vastgesteld. Op basis van deze studie is een 'No Effect Level' (NOEL) afgeleid van 90 EU/m³. De Gezondheidsraad heeft op basis van deze studie een zogenaamde 'Health Based Occupational Exposure Limit' (HBROEL) vastgesteld van 90 EU/m³. Normaal gesproken worden onzekerheids- of veiligheidsfactoren toegepast bij de omrekening van een NOEL tot een HBROEL. Daar is hier van afgezien omdat de gebruikte studie is uitgevoerd bij mogelijk gevoeliger personen. In het advies van de Gezondheidsraad wordt er vanuit gegaan dat de afgeleide grenswaarde ook tegen chronische effecten beschermt.

Voor blootstelling aan endotoxine vanuit veehouderijen heeft de Gezondheidsraad een tentatieve grenswaarde voorgesteld van 30 EU/m³ (Gezondheidsraad, 2012). De grenswaarde van 90 EU/m³ die is afgeleid voor werknemers (Gezondheidsraad, 2008) heeft men verlaagd met een standaard factor 3 om recht te doen aan zogenaamde intra-species variatie, dat wil zeggen: verschil in gevoeligheid tussen mensen. Deze intra-species correctiefactor wordt toegepast omdat voor de algemene populatie geldt dat ook zieken, kinderen en ouderen daarvan deel uitmaken, welke gevoeliger kunnen zijn voor blootstelling aan endotoxine. Verondersteld wordt dat ook deze bevolkingsgroepen door de verlaging beschermd worden. Een beter onderbouwde factor voor deze verschillen in gevoeligheid kan naar de mening van de Gezondheidsraad op dit moment niet worden gegeven.

Omdat de grenswaarde voor de werkomgeving gedefinieerd is voor een duur van 8 uur, en beschermt tegen acute effecten, moet er van worden uitgegaan dat de grenswaarde voor de buitenlucht ook betrekking heeft op een vergelijkbare blootstellingsduur. Eventueel kan gekozen worden voor een kortere duur, op basis van de literatuur over gezondheidseffecten, en moet gedacht worden aan minimaal 4 uur. Daarnaast moet een grenswaarde beschermen tegen het optreden van het kritische effect: acute effecten op de luchtwegen. Bedacht moet worden dat verschillen in individuele gevoeligheid bestaan.

2.4 Het meten van endotoxinen

Er zijn meerdere methoden beschikbaar om endotoxine in de lucht te meten, een overzicht hiervan staat beschreven in de literatuur (Duquenne et al., 2013). De methoden voor het meten van endotoxine in de lucht zijn veelal gebaseerd op hetzelfde basisprincipe, startend met een monstername fase. Hierbij wordt stof dat zich in de lucht bevindt verzameld, waarna in de analyse fase de hoeveelheid endotoxine in het stof gekwantificeerd wordt.

2.4.1 Monstername middels filtratie

De meetmethode om endotoxine in de lucht in de werkomgeving te bepalen is op Europees niveau gestandaardiseerd en staat beschreven in het meetvoorschrift EN 14031 (CEN, 2003). De monstername is gebaseerd op opvangen van de inhaleerbaar stoffractie op een filter. De inhaleerbare stoffractie is gedefinieerd in Europese norm EN 481 als deeltjes met een aerodynamische diameter die binnendringen door neus en mond mogelijk maakt (CEN, 1993). Er zijn verschillende soorten inhaleerbaar stof samplers die in meer of mindere mate voldoen aan de inhaleerbaar stof conventies onder praktijkcondities (Görner et al., 2010; Kenny et al., 1997; Sleeth and Vincent, 2012). In het meetvoorschrift EN 14031 wordt het gebruik van glasvezelfilters voorgeschreven, maar andere type filters worden ook gebruikt, zoals polycarbonaatfilters, teflonfilters en PVC filters. Het gebruik van andere filters dan glasvezelfilters kan invloed hebben op de extractie efficiëntie van endotoxine van het filter en wordt daarom afgeraden (Douwes et al., 1995; Spaan et al., 2007), maar kan de voorkeur hebben op basis van andere overwegingen.

Voor metingen op de werkplek is het gebruikelijk om inhaleerbaar stof te verzamelen. Stofmetingen in het algemeen milieu vinden ook plaats middels filtratie, echter hier worden andere fracties verzameld. Gangbare stoffracties zijn PM₁₀ (stofdeeltjes met een aerodynamische diameter van 10 micrometer en kleiner) en PM_{2.5} (stofdeeltjes met een aerodynamische diameter van 2,5 micrometer en kleiner). Het principe is vergelijkbaar als voor de werkplekmetingen. Stofdeeltjes van een gedefinieerde grootte fractie worden ingevangen op een filter. Meest gebruikte type filters voor stofbepaling zijn quartz filters en teflon filters. Er zijn geen systematische studies die de invloed van filter type op de extractie efficiëntie ten aanzien van endotoxine in milieu monsters onderzocht hebben.

2.4.2 Monstername middels impingers

Naast monstername door filtratie kan er ook met zogenaamde "impingers" bemonsterd worden, hierbij worden de stofdeeltjes ingevangen in een waterige oplossing. Voordeel is dat er geen aparte extractie hoeft te worden uitgevoerd, maar nadeel is dat de afvangstkaracteristieken (gemonsterde deeltjesfractie) minder goed gedefinieerd zijn. Studies die monstername op filters met die met behulp van impingers vergeleken hebben tonen aan dat er verschillen optreden in uitkomsten (Duchaine et al., 2001; Spaan et al., 2008b). Resultaten zijn niet eenduidig, endotoxine concentraties kunnen zowel hoger als ook lager zijn bij monstername door impingers. Waarschijnlijk spelen verschillen in afvangstkaracteristieken, bacteriegroei en/of vorming van aggregaten in de oplossing een rol.

2.4.3 Voorzorgsmaatregelen bij monstername

Vorbereiding van metingen moet onder zogenaamd pyrogeenvrije omstandigheden gebeuren (afwezigheid van contaminerende eiwitten). Dus, glaswerk en monstername apparatuur (monstername koppen) moeten in een incubator worden verhit zodat alle endotoxinen worden geïnactiveerd, of grondig worden schoongemaakt. Contaminatie van filtermateriaal gedurende de preparatie van de monsternamekoppen dient te worden voorkomen. Ook moet rekening gehouden worden met mogelijke contaminatie in het veld. Het is van belang bij het opstellen van apparatuur te

beginnen met de locaties met een lage belasting en zo door te werken naar de locaties met de hoogste belasting. Op deze manier is de kans op contaminatie gering. Veldblanco's moeten altijd worden meegenomen. Na monsternamen moeten monsters koel en droog worden bewaard en binnen 1 à 2 dagen verwerkt om microbiële groei te voorkomen. Hoewel herhaald vriezen en ontdooien van monsters de endotoxine concentratie beïnvloeden, worden bij omvangrijke meetreeksen verzamelde monsters veelal eerst bij -20 graden Celsius opgeslagen tot nadere analyse, hiermee wordt het mogelijke effect van de opslag gestandaardiseerd. Daarnaast dient herhaald invriezen en ontdooien van extracten vermeden te worden (Douwes et al., 1995; Spaan et al., 2007).

2.4.4 Analyse van monsters met de LAL-test

De meest gebruikte methode om endotoxine in een stofmonster te bepalen is met behulp van de Lymulus Amebocyte Lysaat (LAL) test. Na de stofmonsternamen wordt de endotoxine in het stof in 14031 beveelt extractie door gedurende één uur schudden bij kamertemperatuur aan (CEN, 2003). Opgelost endotoxine is meetbaar met de LAL-test, die functioneert op basis van een enzymstelsel geproduceerd uit het serum van de Molukkenkreeft. Deze test wordt al tientallen jaren met diverse modificaties gebruikt om endotoxinen in de leef- en werkomgeving te meten. De meest gebruikte modificatie is de chromogene kinetische LAL-test, welke dan ook de voorgeschreven assay in het Europees protocol voor metingen in de werkplek is (CEN, 2003). Endotoxine wordt in dit assay gemeten door het ontstaan van een kleurreactie over de tijd te volgen bij een golflengte van 405 nm. De snelheid in toename van de optische dichtheid is een maat voor de endotoxine concentratie. Door endotoxine te meten in een reeks standaard monsters, waarmee een ijklijn wordt verkregen, en de onbekende monsters hiermee te vergelijken, kan de concentratie worden bepaald. De concentratie wordt uitgedrukt in 'Endotoxine Units' (EU) per monster. De 'endotoxine units' zijn een maat voor de biologische activiteit van een monster, hetgeen als meer relevant gezien wordt dan de 'massa'. De LAL test is zeer gevoelig en kan endotoxine bij zeer lage concentraties in oplossing meten. In de lucht hangt de detectiegrens onder andere af van het totaal gemonsterde volume en het extractie volume. Omdat allerlei soorten verbindingen in een monster alsook de zuurgraad de LAL test kunnen beïnvloeden moeten altijd verdunningsreeksen worden geanalyseerd om te onderzoeken of inhibitie of versterking optreedt waardoor te lage of te hoge concentraties worden verkregen (Hollander et al., 1993; Thorne et al., 2010).

2.4.5 Analyse van monsters met andere testsystemen

Sinds enkele jaren bestaat ook een zogenaamde rFC (recombinant Factor C) test voor endotoxine (Saito et al., 2009; Thorne et al., 2010). De test is gebaseerd op dezelfde enzymcascade die ook in de LAL-test wordt gebruikt, maar bevat alleen de eerste component van de enzymcascade, de C component. Deze component is gezuiverd en gekloneerd en verwerkt in een fluorescentie - teststelsel. Omdat deze test alleen op de C component gebaseerd is, is deze minder gevoelig dan de LAL-test voor potentieel storende factoren die op andere componenten van de enzymcascade kunnen inwerken, zoals glucanen, dan de LAL-test. De LAL en rFC lijken redelijk goed correlerende uitkomsten te geven, maar de laatste is nog niet veelvuldig in studies toegepast.

Een andere biologische testmethode die beschreven is, is de 'volbloed assay'. Deze assay gebruikt als maat voor de hoeveelheid endotoxine de cytokineproductie van humane bloedcellen (Liebers et al., 2008; Smit et al., 2006). Een groot nadeel van deze test is echter dat er systematische verschillen tussen individuen bestaan in volbloed respons (Wouters et al., 2002).

Naast de biologische teststelsel kan endotoxine ook middels chemische analyse bepaald worden met een gaschromatografische methode in combinatie met massa-spectro-fotometrie (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.

2.4.6 Meetprotocollen

Op Europees niveau is de meting van in de lucht aanwezige endotoxine in de werkplek gestandaardiseerd in protocol EN 14031 (CEN, 2003). In Nederland moet dit protocol worden gebruikt voor metingen in de werkomgeving. Dit huidige CEN protocol laat echter een aantal aspecten ongespecificeerd. Daarom geven de Gezondheidsraad en de Nordic Expert Group in het criteria document over endotoxine nog specifieke aandacht aan de wijze van extractie en ze stellen een aanscherping voor van het CEN protocol. Zij adviseren om de extractie van stofmonsters in Tween (een bufferoplossing) uit te voeren, maar de meting in pyrogeen water (Gezondheidsraad, 2010). Onderzoek naar de efficiëntie van extractiemethoden laat zien dat bij gebruik van dit protocol de grootste extractie-efficiëntie zonder beïnvloeding van de LAL-test worden behaald (Douwes et al., 1995; Spaan et al., 2007). Om onzekerheden in de interpretatie te voorkomen bestaat behoefte aan een strikt protocol voor monsternamen, extractie en meting, waardoor de hoeveelheid endotoxinen reproduceerbaar meetbaar is. In dit rapport is een aanzet tot een protocol opgenomen in bijlage A.

In de literatuur wordt regelmatig gerefereerd aan de aanwezigheid van veel variatie in uitkomsten tussen laboratoria (Chun et al., 2006; Chun et al., 2002; Reynolds et al., 2005; Reynolds et al., 2002; Thorne et al., 1997) oplossing gebracht, door middel van schudden in een waterige oplossing. Het Europees protocol EN (Chun et al., 2006; Chun et al., 2002; Reynolds et al., 2005; Reynolds et al., 2002; Thorne et al., 1997). Echter, in vergelijkende studies waarbij gestandaardiseerde protocollen werden toegepast of waarin onderdelen van de analyse geharmoniseerd werden, reduceren de verschillen tussen laboratoria tot binnen één orde grootte (range in concentraties tussen verschillende laboratoria: 3,20–3,97 Log₁₀ EU/m³) (Chun et al., 2006; Chun et al., 2002; Reynolds et al., 2002). Een groot probleem bij deze vergelijkende studies is de wijze waarop de productie van de stofmonsters heeft plaatsgevonden. In veldsituaties is het zeer lastig om homogene en identieke stofmonsters te produceren, vooral als sprake is van relatief lage endotoxine concentraties. Bioaerosolen, waaronder endotoxinen, maar bijvoorbeeld ook allergenen, komen aan deeltjes gebonden voor en zullen dus niet homogeen verdeeld in het stof voorkomen. Daarnaast komen bacteriën vaak in meervoud (trossen) gebonden voor aan stofdeeltjes. Een klein verschil in agglomeraten van bacteriën leidt al tot aanzienlijke verschillen in endotoxineniveaus. Eenzelfde fenomeen werd eerder waargenomen voor allergenen in bakkerijen. Hierbij werden zeer grote verschillen in concentraties van het enzym alpha-amylase (een enzym dat in lage concentraties in granulaat vorm aan meel wordt toegevoegd als broodverbetermiddel) gemeten in monsters die tegelijkertijd verzameld waren (Sander et al., 2007).

Geconcludeerd moet worden dat bij gebruik van gestandaardiseerde protocollen, die gedetailleerd het proces van monsternamen, extractie en detectie beschrijven, metingen van endotoxinen voldoende reproduceerbaar zijn.

2.4.7 Meetstrategie

Een laatste belangrijk punt waar rekening mee gehouden moet worden in de meetstrategie bij meting van endotoxine in de lucht is dat de variatie tussen herhaalde metingen in de tijd voor endotoxinen vaak groter is dan in geval van stofblootstelling (Spaan et al., 2008a). Dit is gebleken op basis van grote meetreeksen waarin de vergelijkbaarheid in blootstellingsniveaus tussen personen in een vergelijkbare functie en vergelijkbaarheid van blootstellingsniveaus voor personen over de tijd berekend zijn. Deze relatief grote variatie voor herhaalde metingen over de tijd hangt vermoedelijk samen met variatie in bronblootstelling, bijvoorbeeld door verschillen in temperatuur en vochtigheid op de verschillende meetmomenten door het weer of het klimaat. Hierdoor varieert de groei van micro-organismen. Het gevolg hiervan is dat meer herhaalde metingen moeten worden genomen om een betrouwbare indruk te verkrijgen van de gemiddelde blootstelling in de spreiding hierin voor een te onderzoeken situatie. Hiermee moet rekening worden gehouden bij het opzetten van meetstrategieën. Ook dient hiermee rekening gehouden te worden bij de beoordeling van metingen die uitgevoerd worden om de kans op overschrijding van een norm te toetsen. Dit laatste in analogie van ontwikkelde beoordelingsinstrumenten voor grenswaarden in de werkomgeving (Spaan et al., 2008a).

2.5 Samenvattende conclusies hoofdstuk 2

Blootstelling aan endotoxinen kan leiden tot het optreden van respiratoire en systemische klachten. De door de Gezondheidsraad afgeleide grenswaarden voor de werkomgeving en de buitenlucht rond veehouderijen worden geacht te beschermen tegen het optreden van acute klachten na relatief kortdurende blootstelling gedurende een periode van 4 tot 8 uur. Acute klachten na kortdurende blootstelling worden als het kritische effect gezien. Ook wordt verondersteld dat deze grenswaarden beschermen tegen het optreden van effecten als gevolg van chronische blootstelling. Voor omwonenden van veehouderijen betekent het uitgangspunt van de Gezondheidsraad dat overschrijdingen van de grenswaarde over korte middelingstijden (éénderde dag) in principe niet of beperkt voor mogen komen en dat niveaus over deze korte perioden bewaakt moeten worden.

Er zijn verschillende methoden beschikbaar om endotoxinen te meten. Dit geldt voor zowel de monstername, de extractie als de bepaling. Bij strikt gebruik van gestandaardiseerde protocollen, die gedetailleerd het proces van monstername, extractie en bepaling beschrijven, zijn metingen van endotoxinen voldoende reproduceerbaar. Het is raadzaam aan te sluiten bij het Europees gestandaardiseerde protocol voor de bepaling van endotoxine in de werkomgeving en de aanbevelingen van de Gezondheidsraad en de Nordic expert group over te nemen. Een aanzet voor een standaard protocol is als bijlage A bij dit rapport opgenomen, maar dient nog nader uitgewerkt te worden.

3 Endotoxinen in stallucht

3.1 Bronnen van stofdeeltjes en endotoxinen in stallucht

Gespecialiseerde studies die de bijdrage van individuele bronnen op endotoxine in stallucht onderzocht hebben zijn niet beschikbaar. Omdat endotoxinen in stallucht waarschijnlijk voornamelijk voorkomen als component van kleine deeltjes en druppeltjes (Heederik et al., 2013; Rylander, 2002; Zucker and Müller, 2004b) wordt in Tabel 1 daarom een overzicht gegeven van studies naar bronnen van (fijn)stof in stallen.

Uit Tabel 1 blijkt dat de bronnen mest/urinezuur, huidschilfers, veertjes en voer belangrijk bijdragen aan het stof in stallucht. Bij huisvestingssystemen waar stro of houtkrullen als strooisel wordt gebruikt (melkvee, vleeskuikens, niet-gangbare varkenshouderij) vormt ook dit een belangrijke bron. Leghennenstallen worden meestal ingestrooid met houtkrullen. Door mestproductie is het strooiselmateriaal na enkele weken echter nauwelijks meer aan te treffen; de strooisellaag bestaat dan feitelijk uit gedroogde en verkrumelde mest. Vermoedelijk wordt strooiselmateriaal daarom niet gevonden als bron van stof bij leghennen. Bij melkkoeien zijn verder het kuilvoer en mengvoer specifieke bronnen van stof. De variatie in het endotoxinegehalte in deze verschillende stofbronnen zal de wisselende bijdrage aan de endotoxine belasting bepalen.

Er zijn slechts drie studies bekend waarin het endotoxinegehalte van hierboven besproken stofbronnen is bepaald. Alle drie studies zijn uitgevoerd door onderzoekers Zucker en Muller van de Freie Universität Berlin. In de eerste twee studies werden endotoxinegehalten bepaald in mest, voer en oppervlaktestof van een leghennenstal (Zucker and Müller, 2000) en een vleesvarkensstal (Zucker and Müller, 2002). In beide studies werden hoge endotoxinegehalten aangetroffen in de mest en lagere gehalten in het voer, terwijl het endotoxinegehalte van gesedimenteerd stalstof daartussen zat. In een derde studie bemonsterden Zucker en Müller (2004b) vijf categorieën materialen: mest (gedroogde pluimveemest, gedroogde rundermest, gedroogde varkensmest), voer (leg hennenvoer), strooisel (stro en hooi), gesedimenteerd stof (pluimveestal en schapenstal) en vloeistoffen (varkensgier en drinkwater uit een schapenstal). De hoogste endotoxinegehalten werden gevonden in de gedroogde mestsoorten (range: 840–48.000 EU/μg), gevolgd door hooi en stro (range: 157–425 EU/μg), terwijl de laagste gehalten werden gevonden in varkensgier (190 EU/μg), leghennenvoer (82 EU/μg) en drinkwater (0,2 EU/μg). Het gesedimenteerde stalstof in deze studie bevatte gehalten van 700 EU/μg voor leghennenstof en 325 EU/μg voor schapenstof. Dit beeld bevestigt deze uit de eerste twee studies. De studies laten zien dat vooral mest en in mindere mate stro(oisel) relatief hoge endotoxinegehalten bevatten. Uit recent onderzoek naar stofbronnen in Nederlandse stallen blijkt dat de bronnen mest en stro(oisel) tevens de belangrijkste bronnen zijn van deeltjes kleiner dan 10 μm bij respectievelijk pluimvee en melkkoeien (Cambra-López et al., 2011). Dit kan verklaren waarom het endotoxinegehalte van stalstof aanzienlijk hoger is dan dat van buitenstof (Tabel 2, par. 3.2). Bedacht moet echter worden dat de relatieve bijdrage van bronnen aan stalstof verschillend kan zijn t.o.v. de situatie voor endotoxinen. Het is bijvoorbeeld niet bekend wat het endotoxinegehalte is van een belangrijke bron van stof in varkensstallen als huidschilfers. Aangezien mest een belangrijke bijdrage levert aan stof in stallen en ook een hoog endotoxinegehalte heeft, lijkt dit een belangrijke bron te zijn voor endotoxine in stallucht. De relatieve bijdrage in het totaal aan in stallucht aanwezige endotoxinen zal echter variëren, afhankelijk van diercategorie, huisvestingssysteem en de aanwezigheid van andere bronnen in de stal, zoals huidschilfers of veertjes waarvan het endotoxine gehalte nog niet bekend is.

Tabel 1 Overzicht van studies naar bronnen van (fijn)stof in stallen

Eerste auteur (jaar)	Land	Diercategorie	Stoffractie	Gerapporteerde stofbronnen
Pluimvee				
Koon (1963)	AL, USA	Leghennen, kooi	Totaalstof	Huidschilfers met voerdeeltjes, veren
Feddes (1992)	CAN	Vleeskalkoenen	PM5	70% mest, 28% urinezuur
			PM5-10	70% mest, 20% urinez., 4% voer, 1% veren, 1% huid
			PM >10	43% mest, 29% huid, 12% veren, 6% voer, 2% urinez.
Aarnink (1999)	NL	Vleeskuikens	Totaalstof	Veren (>10%), urinezuur (>10%), voer (<3%), micro-organismen (<3%), mest (<1%)
Aarnink (2011) en Cambra-López (2011)	NL	Vleeskalkoenen	PM2,5	39% veren, 35% mest, 26% strooisel
			PM2,5-10	52% mest, 25% veren, 23% strooisel
		Vleeskuikens	PM2,5	72% mest, 21% veren, 6% strooisel, 1% buitenstof
			PM2,5-10	96% mest, 4% veren
		Leghennen, scharrel	PM2,5	54% mest, 23% voer, 17% veren, 6% buitenstof
			PM2,5-10	86% mest, 15% veren
Leghennen, volière	PM2,5	64% mest, 36% veren		
	PM2,5-10	70% mest, 30% veren		
Varkens				
Curtis (1975)	IL, USA	Vleesvarkens en zeugen	Totaalstof	Conclusie uit onderzoek: stalstof bevat hoger N-gehalte dan voer; stof voornamelijk afkomstig van voer, mest en huid/haar
Donham (1986)	IO, USA	Kraamzeugen, biggen en vleesvarkens	Totaalstof	Mest (bacteriën, darmepitheelcellen, onverteerd voer; belangrijkste stofbron), voer (zetmeel, graandeeltjes), huidschilfers, haardeeltjes, schimmels, zaad- en graandeeltjes, insecten, minerale asdeeltjes
Heber (1988)	KS, USA	Vleesvarkens	Totaalstof	Voer (zetmeeldeeltjes, graandeeltjes; belangrijkste stofbron), huidschilfers
Aarnink (1999)	NL	Biggen	Totaalstof	Voer (>10%), huidschilfers (>10%), mest (1-3%), urinezuur (1-3%), geen micro-organismen
Aarnink (2003)	NL	Vleesvarkens, 40% rooster	Inhaleerbaar	Vergelijkbare bijdragen van: mest, voer en huid
		Vleesvarkens, 40% rooster + enig strooisel	Inhaleerbaar	Vergelijkbare bijdragen van: mest, huid en stro, kleine bijdrage van voer
		Vleesvarkens, dichte vloer met stro en uitloop	Inhaleerbaar	Vergelijkbare bijdragen van: huid en stro, kleinere bijdrage van mest, kleinste bijdrage van voer
Aarnink (2011) en Cambra-López (2011)	NL	Biggen	PM2,5	95% mest, 5% huid, <1% voer, 0% buitenstof
			PM2,5-10	92% mest, 8% huid, 0% voer, 0% buitenstof
		Vleesvarkens	PM2,5	93% mest, 6% huid, <1% voer, <1% buitenstof
			PM2,5-10	69% huid, 30% mest, 1% voer, 0% buitenstof
		Zeugen	PM2,5	79% huid, 17% mest, 4% voer, <1% buitenstof
PM2,5-10	71% huid, 29% mest, 0% voer, 0% buitenstof			
Rundvee				
Aarnink (2011) en Cambra-López (2011)	NL	Melkkoeien	PM2,5	37% stro, 29% mest, 23% kuilvoer, 8% strooise) 3% buitenstof, 0% mengvoer
			PM2,5-10	27% strooisel, 22% stro, 21% mest, 17% kuilvoer, 12% mengvoer, 1% buitenstof

Tabel samengesteld op basis van een actualisatie en integratie van eerdere overzichtsrapportages (Aarnink and Ellen, 2006; Aarnink et al., 2014c; Winkel et al., 2010b; Winkel et al., 2011e)

In studies bij werknemers in de veehouderij is onderzocht welke taken en/of handelingen en welke bedrijfskenmerken van invloed zijn op het niveau van stof- en endotoxineblootstelling. Uit deze studies blijkt dat kenmerken die met stofblootstelling samenhangen niet altijd dezelfde zijn als kenmerken die met endotoxineblootstelling samenhangen (Basinas et al., 2014; Basinas et al., 2013; Preller et al., 1995). Bedrijfskenmerken die geassocieerd waren met endotoxineblootstelling zijn voor varkenshouders: type voer (droogvoer, brijvoer of een combinatie) en de aanwezigheid en het oppervlak van roostervloeren. Bij melkveehouders wordt een helling ten behoeve van afvoer van mest gevonden als determinant van endotoxineblootstelling, naast buitenluchttemperatuur (Basinas et al., 2014). In een studie bij melkveehouders was het type strooisel in de stallen en het aantal dieren per eenheid oppervlakte van invloed op de endotoxineconcentratie (Samadi et al., 2012). In deze studie werd ook het effect van compost in de ligboxen op de stof- en endotoxineblootstelling onderzocht. Toepassing van compost verhoogde de endotoxine- en stofblootstelling met een factor 2 tot 4 t.o.v. melkveebedrijven waar ligboxen met zaagsel of matrassen waren uitgerust.

3.2 Endotoxinegehalten in stof in stallucht en buitenlucht

Er zijn veel studies beschikbaar waarin endotoxineconcentraties in stallucht worden gerapporteerd, alsook enkele studies uitgevoerd in buitenlucht. Enkele van deze studies rapporteren eveneens het gehalte van endotoxine in het stof (eenheid: EU per microgram of milligram stof). Deze studies zijn samengevat in Tabel 2.

Uit Tabel 2 blijkt dat het endotoxinegehalte in stof in stallucht veel hoger is dan in buitenlucht. In stedelijke omgevingen bevat het stof doorgaans slechts enkele EU/mg, in stallucht gaat dit om honderden EU/mg. In de tabel is een directe vergelijking tussen de verschillende onderzoeken niet mogelijk, aangezien er verschillen zijn in bemonsterings- en analyseprotocollen.

In de studie van Spaan et al. (2008a) is een database opgebouwd met data van studies waar endotoxine metingen zijn uitgevoerd voor een breed scala aan (agrarisch) industriële settings. Deze database is gebruikt om een beeld te verkrijgen van het endotoxinegehalte van stalstof en de variatie hierin. In Tabel 3 wordt een overzicht gegeven van de gemiddelde en range in concentraties van stofblootstelling, endotoxineblootstelling en het endotoxinegehalte in het stof. Uit de tabel blijkt dat de gemiddelde endotoxinegehalten vergelijkbaar zijn tussen de diercategorieën. De spreiding rond de gemiddelde endotoxinegehalten kunnen dus sterk variëren (een factor 10 tot 70 binnen diercategorieën). Uit Tabel 3 blijkt ook dat de variatie in endotoxineconcentraties groter is dan de variatie in stofconcentraties. Dit is naar alle waarschijnlijkheid daadwerkelijke variatie als gevolg van invloeden die van belang zijn voor de groei van bacteriën, zoals temperatuur en luchtvochtigheid, waardoor het endotoxinegehalte in het stof niet constant is. Hierbij moet worden aangetekend dat het hier om blootstellingsmetingen gaat waarbij door de stalmedewerker verschillende taken en handelingen worden verricht gedurende een langere periode. Deze handelingen kunnen endotoxine bevattende deeltjes afkomstig van verschillende stofbronnen en -reservoirs in de lucht brengen. De door blootstellingsmetingen verkregen concentraties kunnen daarom ook niet direct geëxtrapoleerd worden naar stof- en endotoxine emissies. Bedacht moet worden dat de meeste stofemissie in stallen gegeneerd wordt door dieractiviteit. De dieren staan in het algemeen in contact met steeds dezelfde stofbronnen. De mate waarin deze bronnen aanwezig zijn kan echter variëren. Bij vlees kuikens is er in het begin van de groeiperiode bijvoorbeeld vooral strooisel aanwezig op de vloer, terwijl dit aan het eind vooral mest is.

Tabel 2 Overzicht van gerapporteerde endotoxinegehalten in stof (endotoxin units per mg stof) in stallucht en buitenlucht

Eerste auteur (jaar)	Meetlocatie	Land	Tijdsduur bemonst.	Stoffractie	Endotoxinegehalte (EU/mg)
a. Stallucht					
Jones (1984)	Vleeskuikens	NC, USA	4–6 uur	Totaalstof (PM100) Respirabel (PM4)	Gem. 64–160 Gem. 200–300
Ogink (1997b)	Vleesvarkens; 2 stallen	NL	24 uur	Inhaleerb. (PM100) PM8,5 Respirabel (PM4)	Gem. 601 (1,9) en 591 (1,3) ^a Gem. 533 (1,4) en 788 (1,5) ^a Gem. 661 (1,6) en 745 (2,5) ^a
	Zeugen; 2 stallen	NL	24 uur	Inhaleerb. (PM100) PM8,5 Respirabel (PM4)	Gem. 445 (1,3) en 585 (1,4) ^a Gem. 501 (1,6) en 624 (2,0) ^a Gem. 324 (1,2) en 372 (1,6) ^a
Kirychuk (2010)	Pluimvee; grondhuisvesting	CAN	4 uur	Totaal (PM100) Niet-respirabel Respirabel (PM4)	Gem. 901,5 (732,9–1108,9) ^b Gem. 983,0 (808,0–1195,8) ^b Gem. 704,4 (484,6–1023,9) ^b Range in gemiddelden stoffracties: 100–1000
	Pluimvee; kooihuisvesting	CAN	4 uur	Totaal (PM100) Niet-respirabel Respirabel (PM4)	Gem. 538,0 (417,8–692,8) ^b Gem. 585,6 (448,0–765,6) ^b Gem. 331,1 (236,6–463,4) ^b Range in gemiddelden stoffracties: 100–600
Yang (2013)	Kraamzeugen	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 439 (2,8) ^a
	Dragende zeugen	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 622 (3,0) ^a
	Gespeende biggen	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 875 (2,4) ^a
	Vleesvarkens	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 929 (2,2) ^a
	Leghennen (kooi)	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 287 (3,0) ^a
	Vleeskalkoenen	IL, USA	24 uur	Totaalstof (PM100)	Gem. 780 (2,9) ^a
Aarnink (2014a)	Geiten	NL	24 uur	PM2,5 PM10 Totaalstof	Gem. 19 (7) ^a Gem. 210 (2) ^a Gem. 76 (2) ^a
b. Buitenlucht – stedelijke omgeving					
Carty (2003)	München	D	42 uur	PM2,5	Gem. 1,1 (0,9–1,3) ^b
Morgenstern (2005)	München	D	42 uur	PM2,5 PM10	Gem. 1,3 (range: 0,7–2,4) Gem. 3,9 (range: 1,9–7,5)
Traversi (2011)	Torino	IT	4 uur	PM10	Gem. 108 (SD: 10)
Nilsson (2011)	Stockholm	SE	24 uur	PM2,5 PM10	Gem. 2,2 (range: 0,7–7,9) Gem. 3,7 (range: 1,1–10,1)
c. Buitenlucht – ruraal, zonder veehouderij					
Heinrich (2003)	Hettstedt, ca. 20.000 inw., weinig veehouderij	D	123–193 Uur	PM2,5 PM2,5-10	Gem. 0,8 (range: 0,2–3,6) Gem. 11,7 (range: 4,0–25,2)
	Zerbst, ca. 20.000 inw., weinig veehouderij	D	123–193 uur	PM2,5 PM2,5-10	Gem. 0,7 (range: 0,2–4,3) Gem. 10,9 (range: 3,1–24,2)
Muller-A. (2004)	13 meetlocaties	CA, USA	24 uur	PM10	Range: 0,7–96,8
d. Buitenlucht – ruraal, veehouderijgebied					
Schinasi (2011)	16 'Communities' met veehouderij	CA, USA	12 uur	PM10	Gem. 38 (range: 20–88)

^a Geometrisch gemiddelde met tussen haakjes de geometrische standaarddeviatie

^b Geometrisch gemiddelde met tussen haakjes het 95% betrouwbaarheidsinterval voor dat gemiddelde

Tabel 3 Geometrisch gemiddelde (GM), geometrische standaarddeviatie (GSD) en range in de endotoxineconcentratie in de lucht, de inhaleerbaar stof concentratie, en het endotoxinegehalte in het stof voor persoonlijke blootstellingsmetingen in de veehouderij (Spaan et al., 2008a)

	B	N (herh.)	K (herh.)	Endotoxineconcentratie (EU/m ³)		Stofconcentratie (mg/m ³)		Endotoxinegehalte (EU/mg)	
				GM (GSD)	Range	GM (GSD)	Range	GM (GSD)	Range
Totaal	202	377 (332)	211 (166)	1190 (2,4)	62,2–19500	2,40 (1,9)	0,36–26,6	496 (2,2)	43,8–2951
Melkvee	2	12 (12)	6 (6)	788 (3,6)	62,2–3860	1,35 (1,8)	0,36–2,7	584 (2,7)	94,6–2018
Pluimvee	3	9 (6)	6 (3)	1750 (2,8)	360–8120	4,59 (2,0)	1,58–13,6	381 (2,5)	121,5–1339
Varkens	197	356 (314)	199 (157)	1190 (2,4)	73,0–19500	2,40 (1,9)	0,36–26,6	496 (2,1)	43,8–2951

B Aantal bedrijven in de database

N(herh.) Aantal metingen (aantal herhaalde metingen)

K(herh.) Aantal individuen (aantal individuen met herhaalde metingen)

3.3 Endotoxinegehalten in stalstof van verschillende deeltjesgrootte

Er zijn slechts enkele studies die de endotoxineconcentratie in stallucht bepaald hebben in stoffracties van verschillende deeltjesgrootte. Er is onderscheid te maken tussen studies die een beperkt aantal stoffracties verzameld hebben (meestal respirabel stof en inhaleerbaar stof of PM₁, PM_{2,5} en PM₁₀) en studies die de endotoxineconcentratie in een grote range van deeltjesgrootteklassen hebben bepaald.

De eerste studies (Tabel 2) laten in het algemeen zien dat de bijdragen van de kleinere stoffracties (respirabel stof, PM₁ of PM_{2,5}) aan de totale concentratie van endotoxine in de lucht enkele tientallen tot honderdtallen malen lager zijn dan de bijdrage van de grotere stoffracties (inhaleerbaar of totaalstof, PM₁₀) (Aarnink et al., 2014a; Heinrich et al., 2003; Jones et al., 1984; Kirychuk et al., 2010; Olenchock et al., 1982). Dit lijkt op te gaan voor de meeste diercategorieën die onderzocht zijn (varkens, pluimvee en geiten).

In Tabel 4 zijn gegevens opgenomen van drie studies die de endotoxineconcentratie in een grote range van deeltjesgrootteklassen hebben bepaald. Uit de tabel blijkt dat de deeltjes kleiner dan ca. 2–3 µm slechts beperkt bijdragen aan de totale concentratie endotoxinen in stallucht. In het algemeen geldt voor kleine stofdeeltjes dat de totale massa van deze deeltjes klein is; ze vormen slechts een zeer klein percentage van de totale massa van deeltjes in de lucht. Daarnaast suggereren de gegevens in Tabel 4 dat voor pluimvee het endotoxinegehalte in deze kleine deeltjes lager is (Hinz et al., 2007; Kirychuk et al., 2010). Voor varkens wordt dit in de enig beschikbare studie minder uitgesproken gevonden (Siggers et al., 2011). Vermoedelijk zijn deze kleine, endotoxine-arme deeltjes voornamelijk afkomstig van buiten. Deze deeltjes worden de stal ingezogen via de luchtinlaat en daar bemonsterd (vergelijk ook de relatief lage endotoxinegehalten in buitenstof in Tabel 2). In recent onderzoek naar stofbronnen in stallen werden sommige deeltjes als buitenstof geclassificeerd, met name in de PM_{2,5} fractie (Cambra-López et al., 2011). In de grotere deeltjesklassen zit niet alleen de meeste massa van het in de lucht aanwezige stof, maar ook het endotoxinegehalte van deze deeltjes lijkt groter. Uit Tabel 4 blijkt dat bij pluimvee en varkens de stoffractie van 10 µm en groter minimaal 45% van het totaal in de lucht aanwezige endotoxine bevat. Het gehalte aan endotoxine per mg stof lijkt echter voor de fracties groter dan ca. 2 µm niet veel te variëren. Er zijn echter geen herhaalde metingen gerapporteerd en het betreft een klein aantal onderzocht stallen, het is daarom niet aan te geven wat de variatie in deze schattingen is.

Tabel 4 Overzicht van geschatte endotoxineconcentraties (percentage van de totale endotoxineconcentratie in procenten) en endotoxinegehalten in het stof in verschillende deeltjesgrootteklassen, in pluimvee- en varkenstallen

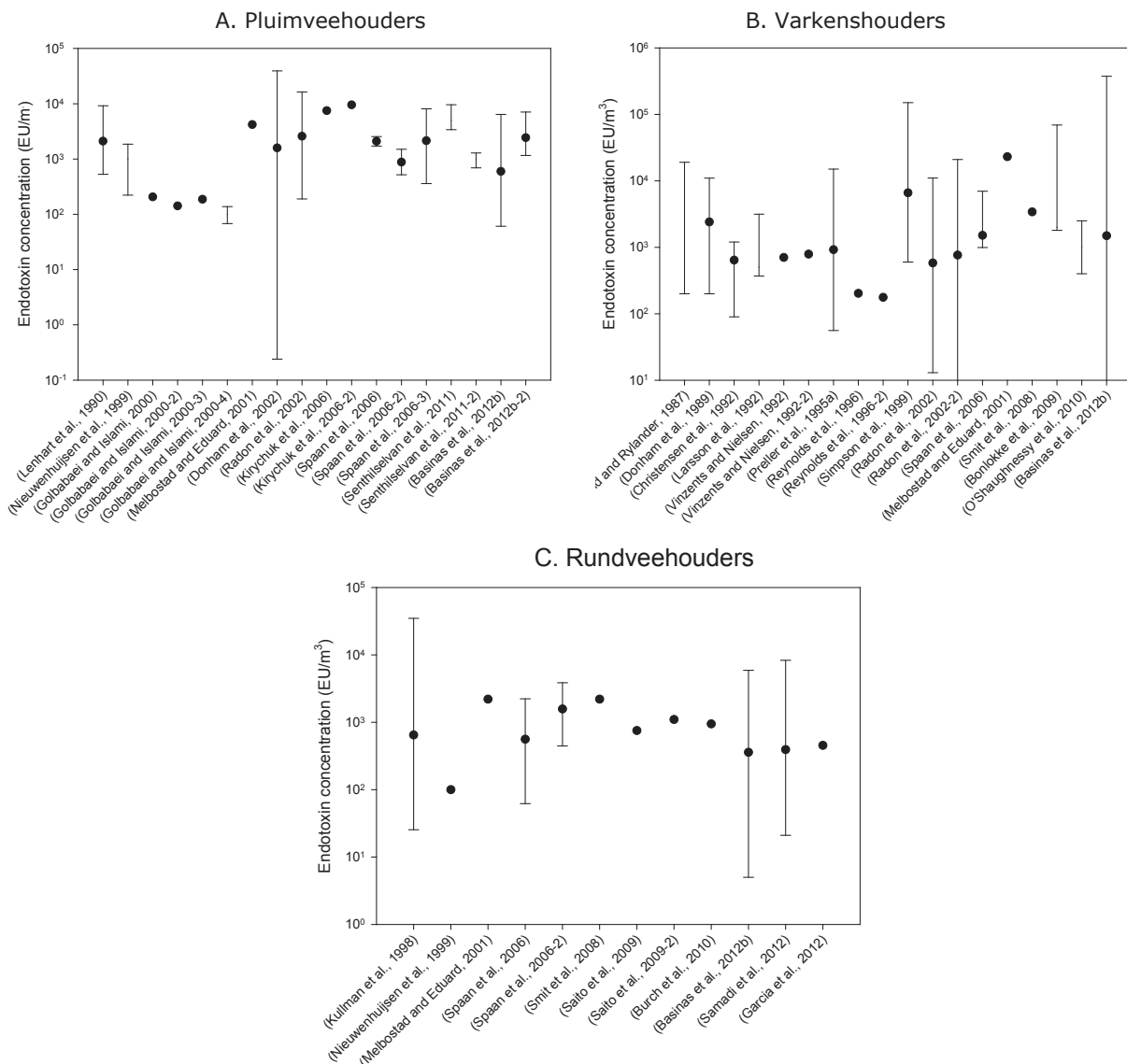
Eerste auteur (jaar)	Diercategorie	Deeltjesgrootte (μm)	Endotoxine concentratie; EU/m ³ (%)	Endotoxine gehalte; EU/mg	
Kiryuchuk (2010)	Pluimvee; grondhuisvesting	>9,8	1700 (68)	620	
		6,0–9,8	500 (20)	400	
		3,5–6,0	150 (6)	325	
		1,6–3,5	100 (4)	300	
		0,9–1,6	25 (1)	100	
		0,5–0,9	25 (1)	200	
	Pluimvee; kooihuisvesting	>9,8	600 (48)	950	
		6,0–9,8	400 (32)	1050	
		3,5–6,0	150 (12)	800	
		1,6–3,5	50 (2)	700	
		0,9–1,6	25 (2)	150	
		0,5–0,9	25 (2)	100	
	Hinz (2007)	Pluimvee; vleeskalkoenen	8,0–16,0	-	3700
			4,0–8,0	-	5200
2,0–4,0			-	3200	
1,0–2,0			-	900	
0,500–1,000			-	30	
0,250–0,500			-	83	
0,125–0,250			-	10	
0,06–0,125			-	1,3	
0,03–0,060			-	2,0	
0,015–0,030			-	1,3	
Siggers (2011)	Varkens	9,0–10,0	1000 (46,0)	1000	
		5,8–9,0	600 (27,6)	1100	
		4,7–5,8	250 (11,5)	3500	
		3,3–4,7	200 (9,2)	1200	
		2,1–3,3	95 (4,4)	1400	
		1,1–2,1	15 (0,7)	1000	
		0,7–1,1	8 (0,4)	900	
		0,4–0,7	7 (0,3)	1000	

3.4 Endotoxineconcentraties in stallucht

Er zijn tientallen studies verricht die de persoonlijke blootstelling aan endotoxine in veehouderijen hebben onderzocht. Deze zijn in een recent overzichtsartikel uitgebreid samengevat (Basinas et al., 2013). Gerapporteerde concentraties voor persoonlijke blootstelling kunnen gezien worden als een indicatie voor de concentratie endotoxine in de lucht in stallen. Persoonlijke blootstellingsmetingen representeren over het algemeen een 6- tot 8-uursgemiddelde concentratie over de dag. Het geeft echter slechts een indicatie van de concentratie in de lucht van de stallen, omdat bekend is dat persoonlijke blootstellingsmetingen veelal resulteren in hogere concentraties als gevolg van werkzaamheden en nabijheid tot de bron. Gemiddelde endotoxineconcentraties voor varkensstallen, melkveestallen en pluimveestallen die in de blootstellingsstudies zijn waargenomen, zijn uitgezet in de onderstaande figuren.

Afhankelijk van de wijze van rapporteren betreft dit het geometrisch gemiddelde, het rekenkundig gemiddelde of de mediaan. Uit Figuur 3B blijkt dat de gemiddelde blootstelling voor varkenshouders schommelt rond de 1000–2000 EU/m³, met enkele uitschieters in de gemiddelde blootstelling naar boven en naar beneden. Voor metingen in de melkveehouderij zijn de gemiddelden wat lager, tussen 600 en 1100 EU/m³ (Figuur 3C). Bij pluimveehouders worden gemiddeld genomen hogere blootstellingen gemeten met gemiddeld gerapporteerde blootstellingen veelal tussen de 1000 en

10.000 EU/m³. Bedacht moet worden dat deze getallen de gemiddelde blootstellingen zoals gerapporteerd in de studies representeren. De overall range in blootstelling vertoont een veel grotere variatie, circa een factor 10–100 verschil in concentraties kan optreden. De range in blootstelling is eveneens aangegeven in de figuur. Voor meer details van de studies verwijzen we naar Basinas et al. (2013).



Figuur 3 Gerapporteerde gemiddelde (geometrisch gemiddelde, rekenkundig gemiddelde of mediaan; bolletjes) en/of range in persoonlijke endotoxineblootstelling (verticale lijnen) voor studies uitgevoerd in varkensstallen (A), pluimveestallen (B) en rundveestallen (C). Voor meer informatie wordt verwezen naar Basinas et al. (2013)

Aangezien er herhaalde waarnemingen voor dezelfde personen in de database van Spaan et al. (2008a) beschikbaar zijn, is het mogelijk om te onderzoeken wat de vergelijkbaarheid is voor stofconcentraties, endotoxineconcentraties en endotoxinegehalten in het stof tussen metingen die herhaald over de tijd bij dezelfde persoon zijn uitgevoerd. Verder kan nagegaan worden hoe de vergelijkbaarheid voor deze blootstellingen is voor metingen uitgevoerd bij verschillende personen werkzaam met dezelfde diercategorie. Hiervoor worden binnenpersoons variantiecomponenten (vergelijkbaarheid over de tijd) en tussenpersoons variantiecomponenten (vergelijkbaarheid tussen personen) uitgerekend, welke een maat zijn voor de spreiding tussen de metingen. Tabel 5 geeft een overzicht van de binnen- en tussenpersoonsvariantie voor observaties in de pluimvee-, varkens- en melkveehouderij.

Tabel 5 Tussenpersoons (TP) en binnenpersoons (BP, 'dag tot dag') variantiecomponenten en bijbehorende geometrische standaarddeviatie (GSD) voor inhaleerbaar stofconcentraties, endotoxineconcentraties en endotoxinegehalten in de veehouderij

	Endotoxineconcentratie (EU/m ³)				Stofconcentratie (mg/m ³)				Endotoxinegehalte (EU/mg)			
	σ^2_{TP}	σ^2_{BP}	GSD _{TP}	GSD _{BP}	σ^2_{TP}	σ^2_{BP}	GSD _{TP}	GSD _{BP}	σ^2_{TP}	σ^2_{BP}	GSD _{TP}	GSD _{BP}
Pluimvee	0,56	0,42	2,11	1,91	0,37	0,17	1,84	1,51	0,09	0,72	1,35	2,34
Varkens	0,11	0,64	1,39	2,23	0,10	0,32	1,37	1,76	0,10	0,48	1,37	2,00
Melkvee	0,94	0,80	2,64	2,45	n.b.	0,32	nb	1,76	0,73	0,32	2,35	1,76

σ^2_{TP}	Tussenpersoons variatiecomponent (vergelijkbaarheid metingen tussen verschillende personen op bedrijven binnen dezelfde diercategorie)
σ^2_{BP}	Binnenpersoons variatiecomponent (vergelijkbaarheid metingen zelfde persoon over de tijd)
GSD _{TP}	Maat voor spreiding in blootstellingsmetingen tussen personen
GSD _{BP}	Maat voor spreiding in herhaalde blootstellingsmetingen binnen een persoon over de tijd
n.b.	Niet te bepalen

Zoals vaker gevonden (Spaan et al., 2008a), zijn de variantiecomponenten (dus de variatie in blootstelling) groter voor endotoxineconcentraties dan voor stofconcentraties. In het algemeen is de variatie voor metingen herhaald over de tijd groter of in dezelfde orde van grootte, als de variatie/vergelijkbaarheid in metingen uitgevoerd bij verschillende personen op bedrijven binnen dezelfde diercategorie. Niet eerder werd de vergelijkbaarheid voor het endotoxinegehalte van het stof tussen en binnen personen onderzocht. Opvallend is dat de tussenpersoonsvariatie (de vergelijkbaarheid tussen bedrijven/personen) voor het endotoxinegehalte in de pluimvee- en varkenshouderij relatief klein is. Dit suggereert dat gemiddeld genomen de hoeveelheid endotoxine per mg stof voor metingen bij verschillende personen vergelijkbaar is. Echter, de binnenpersoonsvariatie (de vergelijkbaarheid van herhaalde metingen over de tijd) is groot. Voor de melkveehouderij geldt dat de vergelijkbaarheid voor herhaalde metingen over de tijd meer vergelijkbaar zijn dan metingen die uitgevoerd worden bij verschillende personen. De spreiding (GSD) is in alle gevallen echter groot, en vergelijkbaar of groter dan eerder gerapporteerd voor chemische blootstellingen (Kromhout et al., 2004; Kromhout et al., 1993; Kromhout and Vermeulen, 2001). Aandachtspunt is dat deze bevindingen voor pluimvee en melkvee slechts indicatief zijn omdat deze voor deze categorieën slechts op een beperkt aantal waarnemingen gebaseerd zijn.

De in Tabel 3 en Figuur 3 weergegeven concentraties zijn afkomstig van blootstellingsmetingen. Zoals eerder in deze paragraaf aangegeven kunnen deze metingen hogere concentraties geven dan stationair uitgevoerde metingen nabij het emissiepunt van het gebouw. In het EU-project 'Aerial Pollutants' (Seedorf et al., 1998b) zijn endotoxineconcentraties (in inhaleerbaar stof) wel stationair gemeten (zie ook par. 4.1). In dit onderzoek werden de laagste concentraties gemeten bij melkkoeien en vleeskoeien op roostervloeren (range in 12-uursgemiddelden: 52–160 EU/m³). Bij melkkoeien op stro en bij vleeskalveren op roosters waren concentraties hoger (range in 12-uursgemiddelden: 68–1101 EU/m³). Bij zeugen, biggen en vleesvarkens liepen 12-uursgemiddelden uiteen van 201 tot 3651 EU/m³. Bij leghennen op strooiselvloeren werden hogere concentraties gevonden t.o.v. hennen gehouden in kooien (range in 12-uursgemiddelden voor alternatieve huisvesting: 1046–4313 EU/m³; range in 12-uursgemiddelden voor kooihuisvesting: 200–208 EU/m³). Bij vleeskuikens tot slot lagen 12-uursgemiddelden in een range van 2935 tot 4693 EU/m³. Bij vleeskuikens werden metingen overigens uitgevoerd in de tweede helft van de groeiperiode wanneer de hoogste concentraties van stof voorkomen.

3.5 Relaties tussen endotoxinen en stof, ammoniak en geur

Een belangrijke vraag in dit bronnenonderzoek is of een zodanig verband bestaat tussen endotoxine enerzijds en stof, ammoniak of geur anderzijds dat eventuele concentratie-, emissie- en emissiereductiecijfers voor endotoxinen van andere beschikbare cijfers zouden kunnen worden afgeleid. In Tabel 6 wordt een overzicht gegeven van studies waarin een samenhang tussen concentraties van endotoxine en stof is onderzocht.

Uit de gegevens in Tabel 6 blijkt dat concentraties van endotoxinen in de lucht van stallen positief samenhangen met concentraties van stofdeeltjes (zowel van totaalstof/inhaleerbaar stof, respirabel stof als PM10). Dit betekent dat wanneer stofconcentraties toenemen, ook endotoxineconcentraties toenemen en wanneer stofconcentraties afnemen, ook endotoxineconcentraties afnemen. Daarnaast rapporteren Donham et al. (2000) een zwakke positieve samenhang tussen ammoniak en respirabel endotoxine ($r=0,18$; $P=0,019$). De positieve samenhang tussen endotoxinen en stof zou op twee manieren kunnen worden verklaard. In de eerste plaats doordat het endotoxine met name voorkomt als component in het stof. Wanneer het gehalte aan endotoxinen in het stof (bijv. uitgedrukt in EU per mg stof) binnen een zekere bandbreedte blijft, zou het endotoxineconcentratie in gelijke tred kunnen meebewegen met de stofconcentratie in de lucht. Dit zou met name het geval kunnen zijn voor herhaalde metingen binnen dezelfde stallocatie (Zucker and Müller, 2000) of voor metingen in meerdere stallen van dezelfde subcategorie (Lawniczek-Walczyk et al., 2013; Zucker and Müller, 2002), terwijl in heterogenere datasets afkomstig van metingen uit verschillende subcategorieën of diercategorieën (Donham et al., 2000; Simpson et al., 1999; Spaan et al., 2006) lagere correlaties verwacht zouden mogen worden. De gegevens in Tabel 6 wijzen voorzichtig in die richting. Toch worden ook in heterogenere datasets significante correlaties gevonden. In de tweede plaats kan een positieve samenhang tussen stof en ammoniak of tussen stof en endotoxinen kunnen ontstaan doordat alle componenten gevoelig zijn voor verdunningseffecten als gevolg van ventilatie. Een dergelijk verband vonden Attwood et al. (1987) eveneens tussen concentraties van endotoxinen (stoffractie: $8,5 \mu\text{m}$) en CO_2 in varkensstallen. Het gaat bij dit laatste om een statistisch verband en niet om een oorzakelijk werkingsmechanisme tussen de twee componenten.

Tabel 6 Overzicht van studies naar correlaties tussen concentraties van endotoxine en stof in stallen

Eerste auteur (jaar)	Land	Meetlocatie(s)	Fractie	r^*	Sign.
Data van één stal					
Zucker (2000)	D	Kooistal voor leghennen	Inhaleerbaar	0,80	0,01
Aarnink (2014b)	NL	Vleeskuikens	PM10	0,76	0,001
	NL	Vleesvarkens	PM10	0,64	0,01
Data van meerdere stallen van dezelfde subcategorie					
Lawniczek-W. (2013)	PL	3 Vleeskuikenstallen	PM10	0,88 ^a	<0,01
				0,86 ^b	<0,001
Zucker (2002)	D	4 Vleesvarkensstallen	Inhaleerbaar	0,77	0,01
Data van meerdere subcategorieën binneneen diercategorie					
Kiekhaefer (1995)	IA, USA	9 Stallen voor kraamzeugen, 10 stallen voor biggen en 5 stallen voor vleesvarkens	Inhaleerbaar	0,67 ^{a+b}	<0,001
				0,85 ^a 0,94 ^b	<0,001
Simpson (1999)	UK	11 Stallen met kraamzeugen/biggen	Inhaleerbaar	0,27	n.s.
Donham (2000)	IA, USA	Werkenden in stallen voor vleeskalkoenen (51 pers.), leghennen (92) en vleeskuikens (26), en in kippenlachterijen (15)	Inhaleerbaar	0,59	<0,001
			Respirabel	0,56	<0,001
Data van meerdere diercategorieën					
Spaan (2006)	NL	Stallen voor melkvee, vleesvee, varkens, vleeskuikens, leghennen	Inhaleerbaar	0,66	-

* Correlatiecoëfficiënt tussen de massaconcentratie van de genoemde stoffractie en de endotoxineconcentratie (EU/m^3) in deze fractie

^a Zomer

^b Winter

n.s. Niet significant

Ondanks de gevonden samenhang, bieden de besproken studies om twee redenen geen kwantitatieve basis voor het inschatten van endotoxineconcentraties uit stofconcentraties. In de eerste plaats liggen de in de literatuur gevonden correlatiecoëfficiënten³ tussen endotoxinen en stof in een bandbreedte tussen de 0,56 en 0,88. Zoals opgemerkt door Spaan et al. (2006) bestaat het deel van de variatie in endotoxineconcentraties dat verklaard kan worden uit de stofconcentratie uit het kwadraat van de correlatiecoëfficiënten (R^2 ; determinatiecoëfficiënt), in dit geval 31 tot 77%. Dit betekent dat de spreiding in waarnemingen rondom het gerapporteerde verband groot is en naast de heersende stofconcentratie nog meer factoren van invloed zijn op de endotoxineconcentratie; bijvoorbeeld factoren die van invloed zijn op het gehalte van endotoxinen in het stof, zoals de relatieve bijdrage van stofbronnen, het doormaken van bacteriële ziekten, temperatuur en luchtvochtigheid, groei en degradatie van gramnegatieve bacteriën en degradatie van endotoxinen. In de tweede plaats worden in de besproken studies slechts correlatiecoëfficiënten en geen verhoudingen tussen endotoxinen en stof gegeven (in de vorm van richtingscoëfficiënten⁴ van de relatie tussen endotoxine en stof) gegeven. Onduidelijk is daarom in welke mate de verhouding tussen endotoxine en stof kan variëren binnen één stal, tussen meerdere stallen van dezelfde subcategorie, tussen subcategorieën (bijv. tussen vleeskuikens en vleeskalkoenen binnen 'pluimvee') en tussen hoofdcategorieën (rundvee, varkens en pluimvee). Uit de gegevens van blootstellingsonderzoek in een groot aantal sectoren (o.a. akkerbouw, veehouderij) is op te maken dat richtingscoëfficiënten kunnen variëren tussen verschillende werkomgevingen (Spaan et al., 2008a). Op grond van hetzelfde onderzoek is geconstateerd dat de spreiding in de endotoxineconcentratie beduidend groter is dan de spreiding in de stofconcentratie. Juist dit verschil vraagt nadere bestudering omdat verschillen in spreiding van belang zijn voor een eventueel toetsingskader. Een grotere spreiding in endotoxineconcentratie binnen een bedrijf vertaalt zich waarschijnlijk in een grotere spreiding op omgevingsniveau en kan van belang zijn als de overschrijding van een grenswaarde moet worden vastgesteld middels modellering. Er zijn geen studies gevonden waarin een verband tussen concentraties van endotoxinen en geur is bestudeerd.

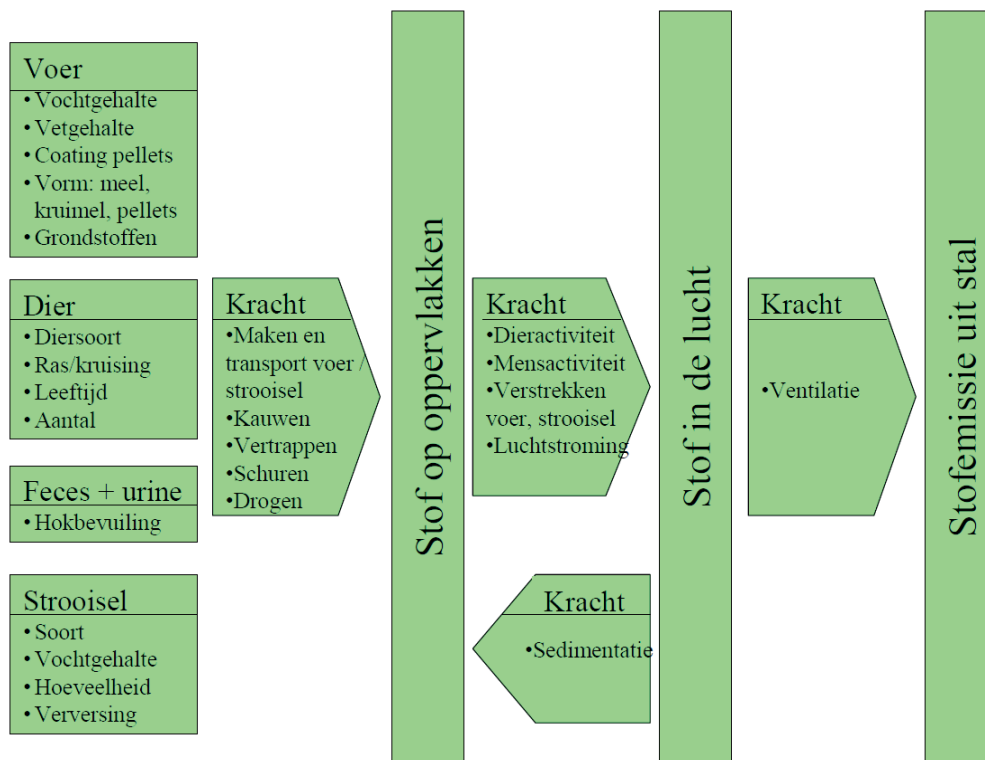
3.6 Processen en factoren van invloed op endotoxine concentraties

Met het rapport 'Processen en factoren bij fijn stofemissie in de veehouderij' (Aarnink and Ellen, 2006) is eerder een overzicht gegeven van de bestaande kennis rondom het tot stand komen van stofconcentraties in stallucht volgens een conceptueel schema (Figuur 4). Aangezien endotoxinen in stallucht voornamelijk voorkomen als component van deeltjes en druppeltjes (Heederik et al., 2013; Rylander, 2002; Zucker and Müller, 2004b) kan in belangrijke mate worden verwezen naar dit rapport.

Bij het opstellen van het rapport van Aarnink en Ellen (2006) kon gebruik worden gemaakt van een grote hoeveelheid studies rond dit thema. In deze studies zijn echter vrijwel altijd oorzaak-effectrelaties in kaart gebracht t.a.v. stofconcentraties. Het aantal studies waarbij specifiek aandacht is besteed aan endotoxinen in het stof is echter zeer beperkt.

³ Correlatiecoëfficiënt: een getal tussen -1 en 1 dat aangeeft in welke mate waarden van twee grootheden eenzelfde (positieve waarden) of tegengestelde tendens (negatieve waarden) vertonen, dan wel niet met elkaar samenhangen (waarde 0).

⁴ Richtingscoëfficiënt: een negatief of positief getal in een regressievergelijking dat aangeeft hoeveel eenheden de afhankelijke variabele (gewoonlijk weergegeven op de y-as) afneemt of toeneemt wanneer de onafhankelijke variabele (gewoonlijk weergegeven op de x-as) één eenheid toeneemt.



Figuur 4 Stofbronnen (voer, dier (huid, haar, veren), feces/urine en strooisel) en processen en factoren van invloed op stofconcentraties in stallucht (Aarnink and Ellen, 2006)

Effecten van mest en hygiënestatus

Aangezien mest, voer en stro/strooisel belangrijke bronnen van endotoxineconcentraties in stallucht lijken te zijn kan verondersteld worden dat de aanwezigheid van mest in het houderijsysteem en onhygiënische omstandigheden belangrijk aan deze concentraties bijdragen. Attwood et al. (1987) vonden in Nederlandse varkensstallen geen verband tussen endotoxineconcentraties en de tijdsspanne sinds de laatste keer dat een stal werd schoongemaakt. In een andere Nederlandse studie werd een verband gevonden tussen endotoxineconcentraties en de 'stoffigheid' van het stalgebouw (Preller et al., 1995). Twee buitenlandse studies vinden geen verband tussen endotoxineconcentraties en de mate van hokbevuiling bij varkens (Banhazi et al., 2005; Duchaine et al., 2000). Dit zou verklaard kunnen worden door het feit dat hokbevuiling vaak optreedt bij hoge temperaturen. Hoge temperaturen geven hoge ventilatiehoeveelheden en daarmee een verdunning van het stof in de lucht. Verder zal er alleen stof worden gevormd wanneer hokken worden bevuild, maar ook weer opdrogen. Bij continu bevuilde, natte vloeren zal het stof gebonden blijven aan de vloer. Uit de studie van Banhazi et al. (2005) blijkt eveneens dat concentraties in diepstrooiselstallen (waarin mest in het ligbed blijft liggen) hoger waren dan in gangbare stallen. In overeenstemming hiermee rapporteren Preller et al. (1995) dat concentraties van stof en endotoxinen in de onderzochte Nederlandse varkensstallen toenemen met het aandeel vaste vloer en afnemen met het aandeel roostervloer. In het EU-project 'Aerial Pollutants' waren concentraties hoger bij zeugen, vleeskoeien en melkkoeien op stro t.o.v. dezelfde diercategorie in hetzelfde land in een huisvestingssysteem met roostervloeren en waren concentraties hoger bij leghennen op strooiselvloeren dan bij kooihuisvesting (Seedorf et al., 1998b) (zie ook par. 3.4). Ook een Franse studie van Huneau-Salaün et al. (2011) rapporteert hogere endotoxineconcentraties in stallen met volière- of grondhuisvesting t.o.v. kooihuisvesting. In twee Canadese studies is dit verschil minder uitgesproken. In een eerste studie (Kiryuchuk et al., 2006) was de blootstelling aan inhaleerbaar stof in kooistallen weliswaar enigszins lager dan in stallen met grondhuisvesting, maar dit verschil werd geheel gecompenseerd door een hoger endotoxinegehalte in het stof van kooistallen. In een tweede studie (Kiryuchuk et al., 2010) was het endotoxinegehalte in het inhaleerbaar stof (PM100) en niet-respirabele stof (>PM4) wederom hoger voor de kooistallen. Echter, de endotoxineconcentratie in lucht was nu wel hoger voor stallen met grondhuisvesting voor deze twee fracties. Gezien de aanwezigheid van strooiselmest lijken hogere endotoxinegehalten (en concentraties) echter waarschijnlijker in stallen met grondhuisvesting. Omdat gedetailleerde contextuele informatie ontbreekt kunnen deze resultaten niet goed worden geïnterpreteerd.

Concentratiepatronen in de tijd

Uit recent onderzoek naar fijnstofemissies uit stallen blijkt dat fijnstofconcentraties karakteristieke 24-uurspatronen vertonen waarbij pieken en dalen sterk samenhangen met dieractiviteit (Pedersen and Takai, 1999) welke weer sterk afhankelijk is van licht en duisternis (Winkel et al., 2014b). In het EU-project 'Aerial Pollutants' waren concentraties van endotoxinen bij varkens en leghennen in het algemeen hoger overdag dan 's nachts (Seedorf et al., 1998b). Voor rundvee en vleeskuikens en voor respirabele endotoxinen werd dit beeld niet of minder uitgesproken gevonden. Bij vleeskuikens kan dit te maken hebben met het feit dat deze stallen ook 's nachts voor een deel worden verlicht. Bij groeiende dieren nemen fijnstofconcentraties doorgaans toe met de leeftijd en het gewicht van de dieren. Voor endotoxinen is dit tot nog toe alleen bij vleeskuikens vastgesteld (Oppliger et al., 2008). In zeven studies (in voornamelijk varkensstallen) is gekeken naar seizoenseffecten in endotoxineconcentraties, welke een wisselend beeld opleveren. Hogere concentraties worden gerapporteerd in de zomer (Duchaine et al., 2000), in de herfst (Kiekhafer et al., 1995) en in de winter (Masclaux et al., 2013; Preller et al., 1995; Schierl et al., 2007), terwijl in twee studies geen seizoenseffecten worden gevonden (Seedorf et al., 1998b; Yang et al., 2013). De tegengestelde bevindingen worden waarschijnlijk veroorzaakt door factoren die een tegengestelde effect hebben op de concentratie, bijvoorbeeld meer endotoxineproductie bij hogere temperaturen, maar tevens een hoger ventilatiedebiet, en daardoor meer verdunning.

Effecten van ventilatieniveau, temperatuur en luchtvochtigheid

Opvallend is dat in de studie van Kiekhafer et al. (1995) stofconcentraties in de winterperiode aanzienlijk hoger zijn (vermoedelijk door een lager ventilatiedebiet; i.e., minder verdunning), maar concentraties van endotoxinen juist lager. In overeenstemming hiermee vinden Yang et al. (2013) dat stofconcentraties afnemen met de temperatuur, terwijl het endotoxinegehalte in het stof juist toeneemt en per saldo geen wezenlijke effecten op endotoxineconcentraties worden gevonden. Zoals in de vorige paragraaf al aangegeven spelen hier mogelijk verschillende effecten door elkaar heen: hogere temperaturen leiden tot lagere stofconcentraties door een hogere ventilatie (grotere verdunning; dit speelt met name in de zomer), terwijl het endotoxinegehalte in het stof mogelijk toeneemt, bijvoorbeeld ten gevolge van hokbevuiling (hetgeen eveneens met name optreedt in de zomer), microbiële groei of een verschuiving in groei van grampositieve naar gramnegatieve bacteriën. Ook de luchtvochtigheid zou kunnen bijdragen aan groei van gramnegatieve bacteriën en endotoxinegehalten in het stof (Banhazi et al., 2005; Preller et al., 1995).

3.7 Samenvattende conclusies hoofdstuk 3

In hoofdstuk 3 is samengevat wat de bronnen van stofdeeltjes en endotoxinen in stallen zijn, welke concentraties uit deze bronnen ontstaan, hoe concentraties van endotoxinen samenhangen met die voor stof, ammoniak en geur, en welke processen en factoren van invloed zijn op endotoxineconcentraties. Op basis van de beperkte beschikbare gegevens lijken vooral mest en in mindere mate stro(oisel) belangrijke bronnen te zijn van het in stallucht aanwezige endotoxine. Onbekend is wat de bijdrage is van andere bronnen, zoals huidschilfers en veertjes. Informatie over de endotoxineconcentraties in relatie tot deeltjesfracties suggereren dat de hoogste endotoxineconcentraties aanwezig zijn in de deeltjes groter dan 2–3 µm. Deze deeltjes vormen samen de grootste massa, maar daarnaast is ook het endotoxinegehalte in deze deeltjes (in EU/mg stof) groter dan voor kleinere deeltjes. Alhoewel gemiddelde endotoxinegehalten (in EU/mg stof) mogelijk niet veel verschillen tussen de diercategorieën is de spreiding rond de gemiddelden groot. Studies die de persoonlijke blootstelling aan endotoxinen in verschillende diercategorieën onderzocht hebben, laten ook een grote spreiding in endotoxineconcentraties zien in vergelijking met concentraties van stof. Stof- en endotoxineconcentraties in stallucht vertonen een duidelijk positieve samenhang, echter, de grote spreidingen in waarnemingen laten niet toe endotoxineconcentraties met voldoende betrouwbaarheid uit stofconcentraties te voorspellen. Endotoxineconcentraties in stallen worden beïnvloed door ventilatiedebiet (meer of minder verdunning), hygiënische aspecten van het houderijsysteem (hokbevuiling, strooiselmest, etc.) en temperatuur (groei van Gram-negatieve bacteriën).

4 Emissies van endotoxinen uit de veehouderij

4.1 Emissies van endotoxinen uit stallen in bestaande literatuur

Hoewel tientallen studies voorhanden zijn waarin endotoxineconcentraties in stallen worden gerapporteerd, zijn slechts vier studies gevonden waarin naast concentraties tevens luchtdebieten zijn bepaald en emissies zijn berekend. In Tabel 7 wordt een overzicht gegeven van de beschikbare emissiestudies.

Tabel 7 Overzicht van studies naar endotoxine emissies uit stallen, uitgedrukt per Livestock Unit (LU; 500 kg levend gewicht) of per aanwezig dier

Diercat.	Eerste auteur (jaar)	Land	Beschrijving stallen	N	Gem. vent. debiet [m ³ h ⁻¹ dier ⁻¹]	Gem. endotoxine emissie [EU×10 ³ per uur]			
						Inhaleerbare fractie		Respirabele fractie	
						Per LU	Per dier	Per LU	Per dier
Melk-koeien	Seedorf (1998b)	^a	Grup-, stro- en ligboxenstallen	31	-	29,0 (max. 114)	34,8 ^b (max. 137)	3,0 (max. 19,0)	3,6 ^b (max. 22,8)
Vlees-koeien	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met stro of roostervloeren	18	-	37,0 (max. 228)	22,2 ^b (max. 137)	6,0 (max. 93,0)	3,6 ^b (max. 55,8)
Vlees-kalveren	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met stro of roostervloeren	17	-	214 (max. 901)	42,8 ^b (max 180)	27,0 (max. 448)	5,4 ^b (max. 89,6)
Zeugen	Ogink (1997a)	NL	2 Stallen	5	92	89,3 ^c	35,7	9,8 ^c	3,9
				5	49	56,3 ^c	22,5	5,5 ^c	2,2
	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met stro of roostervloeren	43	-	374 (max. 9.616)	149,6 (max. 3.846)	37,0 (max. 687)	14,8 ^b (max. 275)
Biggen	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met roostervloeren	25	-	666 (max. 3.478)	26,6 ^b (max. 139)	89,0 (max. 398)	3,6 ^b (max. 15,9)
Vlees-varkens	Ogink (1997a)	NL	2 Stallen	5	90	417 ^d	75,1	69,4 ^d	12,5
				5	45	258 ^d	46,5	20,0 ^d	3,6
	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met stro of roostervloeren	39	-	498 (max. 2.997)	99,6 ^b (max. 599)	52,0 (max. 561)	10,4 ^b (max. 112)
	Lavoie (2009)	CAN	6 Exp. hokken, elk 4 dieren	143	49	1.332	147 ^e	n.g.	n.g.
Leg-hennen	Seedorf (1998b)	^a	Kooi-, volière- en grondhuisvesting	43	-	5.383 (max. 52.471)	21,5 ^b (max. 210)	387 (max. 3.425)	1,5 ^b (max. 13,7)
Vlees-kuikens	Seedorf (1998b)	^a	Stallen met grondhuisvesting	19	-	8.174 (max. 68.363)	32,7 ^b (max. 273)	467 (max. 2.946)	1,9 ^b (max. 11,8)
Vlees-eenden	Seedorf (1998c)	D	Stal met grond-huisvesting (stro)	1	9,7	71,1	0,3 ^f	n.g.	n.g.

^a Het Europese project 'Aerial Pollutants' werd uitgevoerd in stallen in Engeland, Nederland, Denemarken en Duitsland. Emissies zijn gerapporteerd in µg/uur en zijn herberekend naar EU/uur uitgaande van 1 µg = 10.000 EU (endotoxine units)

^b Berekend op basis van een gemiddeld lichaamsgewicht van 600 kg voor melkkoeien, 300 kg voor vleeskoeien, 200 kg voor zeugen, 20 kg voor biggen, 100 kg voor vleesvarkens, 2 kg voor leghennen en 2 kg voor vleeskuikens (Seedorf et al., 1998a)

^c Berekend op basis van een lichaamsgewicht voor zeugen van 200 kg

^d Berekend op basis van het gem. gewicht van de vleesvarkens van 90 kg (Ogink et al., 1997a)

^e Berekend op basis van het gem. gewicht van de vleesvarkens van 55 kg (Lavoie et al., 2009)

^f Berekend op basis van het gem. gewicht van de vleeseenden van 2,2 kg (Seedorf et al., 1998c)

n.g. Niet gemeten

Het meest omvangrijke thans beschikbare onderzoek naar emissies van endotoxinen uit stallen is het EU-project 'Aerial Pollutants' uit de jaren negentig van de vorige eeuw (Wathes et al., 1998). Van deze internationale emissiesurvey is een artikelenserie gepubliceerd waarvan het artikel van Seedorf et al. (1998b) ingaat op emissies van micro-organismen en endotoxinen. In het project zijn o.a. ventilatiedebieten, concentraties van inhaleerbaar en respirabel stof, en endotoxinen in deze stoffracties gemeten in een groot aantal stallen in Engeland, Nederland, Duitsland en Denemarken. Op basis van de datasets van Engeland en Duitsland zijn nog twee publicaties verschenen (Seedorf, 2004; Wathes et al., 1997), welke ter voorkoming van dubbelingen niet zijn opgenomen in Tabel 7. Endotoxine emissies zijn gerapporteerd in microgram/uur per livestock unit (500 kg). In Tabel 7 zijn deze data omgerekend naar endotoxine units (EU) per uur en uitgedrukt per livestock unit en dier. Uit Tabel 7 valt op te maken dat emissies per Livestock Unit (500 kg) aanzienlijk hoger zijn voor pluimvee dan voor rundvee en varkens. Dit is ook bij fijnstofemissie het geval. De oorzaken hiervoor moeten gezocht worden in een combinatie van het toepassen van strooiselvloeren (aanwezigheid van een belangrijke stofbron), de dieractiviteit op het strooisel (waardoor deeltjes in de lucht worden geworpen) en de relatieve hoge ventilatiedebieten.

4.2 Variatiebronnen in endotoxine-emissies

Bij het vaststellen van emissieniveaus spelen twee belangrijke variatiebronnen een rol: binnenbedrijfsvariatie en tussenbedrijfsvariatie. Binnen een bedrijf treden variaties op in de tijd, in concentraties, debieten en emissies, bijvoorbeeld ten gevolge van groei van dieren of van seizoenen. Ook tussen (identiek ingerichte) bedrijven variëren emissieniveaus, bijvoorbeeld t.g.v. verschillen in de bedrijfsvoering. Dit geldt voor emissies in het algemeen. Voor meer informatie over variatiebronnen en bemonsteringsstrategieën wordt verwezen naar een conference paper (Hofschreuder et al., 2008) en de meetprotocollen voor ammoniak (Ogink et al., 2011b) en fijn stof (Ogink et al., 2011a). De achterliggende principes zijn eveneens geldig voor vaststelling van endotoxine-emissies. Omdat endotoxinen afkomstig zijn van groeiende organismen, zullen ze naar verwachting ook enkele specifieke endotoxine-eigen variatiebronnen hebben. Samengevat is het voor het kunnen rapporteren van emissieniveaus van endotoxinen gewenst dat:

- concentraties stationair zijn gemeten (i.p.v. aan het lichaam). Zoals besproken in paragraaf 3.4 geven blootstellingsmetingen doorgaans hogere concentraties dan stationaire metingen omdat tijdens beweging (en bewegende dieren) stof en endotoxinen in de lucht wordt gebracht;
- concentraties zijn gemeten op een plaats in het stalgebouw waar de concentratie representatief is voor de lucht die de stal verlaat, bijvoorbeeld nabij ventilatoren. Bedacht moet worden dat bij persoonlijke blootstellingsmetingen werkzaamheden in wisselende ruimtes kunnen worden uitgevoerd en taken in nabijheid tot de bron van invloed zijn op de uiteindelijk gemeten concentraties.
- metingen zowel overdag als 's nachts zijn uitgevoerd, aangezien er dagnachtpatronen in concentraties en debieten kunnen bestaan;
- metingen uitgevoerd zijn over de verschillende fasen van leg-, lactatie- of groeiperioden en over het kalenderjaar om seizoensvariaties mee te nemen;
- meer dan één stallocatie is onderzocht om tussen-bedrijfsvariaties t.g.v. verschillen in bedrijfsmanagement mee te nemen;
- naast concentraties tevens luchtdebieten zijn bepaald en emissies zijn berekend.

4.3 Endotoxine-reducerende maatregelen in stallen

Om te kunnen voldoen aan Europese normen t.a.v. maximale fijnstofconcentraties in de buitenlucht is tussen 2008 en 2013 een onderzoeksprogramma uitgevoerd waarin emissiereducerende maatregelen voor pluimveestallen zijn ontwikkeld en in de praktijk gevalideerd. Een plan van aanpak voor dit onderzoeksprogramma is gepubliceerd door Ogink en Aarnink (2011). Een overzicht van de uit dit programma beschikbaar gekomen oplossingen is weergegeven in Tabel 8.

Tabel 8 Overzicht van technieken ter verlaging van fijnstofemissies uit pluimveestallen uit onderzoek van Wageningen UR Livestock Research, hun nummering volgens de Rav - systematiek (Regeling ammoniak en veehouderij) en hun reducties van de jaargemiddelde PM10 en PM2,5 emissies op stalniveau

Rav nummer	Omschrijving systeem	Gemiddelde reductie (%)		Referentie validatiemetingen
		PM10	PM2,5	
Systemen die in de stal kunnen worden ingezet				
E 7.1	Oliefilmsysteem met drukleidingen	54	48	Winkel et al. (2011d)
E 7.2	Ionisatiesysteem met neg. coronadraden	49	65	Winkel et al. (2011b)
Systemen die 'end of pipe' kunnen worden ingezet				
*)	Chemische luchtwasser	35	-	<i>Diverse rapportages</i>
*)	Biologische luchtwasser, verblijftijd < 2 s	60	-	<i>Diverse rapportages</i>
*)	Biologische luchtwasser, verblijftijd ≥ 2 s	75	-	<i>Diverse rapportages</i>
*)	Gecombineerde luchtwasser	80	-	<i>Diverse rapportages</i>
E 7.3	Water luchtwassysteem	33	4-37	Melse et al. (2011)
E 7.4	Droogfilterwand	40	Geen	Winkel et al. (2011c)
E 7.5	Ionisatiefilter	57	45	Winkel et al. (2012)
E 7.6 / 7.7	Warmtewisselaar volgens BWL 2011.02 of volgens BWL 2012.03	31	n.v.	Mosquera (2013) en Ellen (2013)
E 6.1	Mestdroogsysteem met geperforeerde doek	55	n.v.	Afgeleid van E 6.4.2
E 6.4.1	Droogtunnel met geperforeerde banden	30	n.v.	Winkel et al. (2011a)
E 6.4.2	Droogtunnel met geperforeerde platen	55	n.v.	Winkel et al. (2011a)
E 2.14	Biobed (biofilter)	70	n.v.	<i>In onderzoek</i>

*) Luchtwassers worden in de Rav-systematiek weergegeven onder diverse Rav nummers in combinatie met een diercategorie en huisvestingsstelsel

n.v. Niet vastgesteld, d.w.z. de jaargemiddelde reductie van PM2,5 is niet vastgesteld op stalniveau

Bij Tabel 8 moet bedacht worden dat stofreductiesystemen doorgaans deeltjes van verschillende grootte met een verschillende efficiëntie verwijderen. De gerapporteerde reductieniveaus in de tabel gelden voor PM10 en PM2,5 en niet voor inhaalbaar stof. Dit is relevant omdat aanwijzingen bestaan dat endotoxinen in stallucht zich voor een belangrijk deel in de grotere deeltjes bevinden (>2 µm; zie par. 3.3). Van systemen die gebruik maken van impactie als verwijderingsprincipe (bijv. droogfilterwand, warmtewisselaar, biobed en droogtunnel), neemt de verwijderingsefficiëntie toe met de deeltjesgrootte. Deze systemen zullen een grotere verwijderingsefficiëntie hebben voor inhaalbaar stof en het endotoxine daarin. Het omgekeerde geldt voor systemen waar de hoogste verwijderingsefficiëntie in de kleinere stofdeeltjes wordt behaald (zoals het ionisatiesysteem met negatieve coronadraden). Hoewel het stofreducerende effect van de systemen beschreven in Tabel 8 naar verwachting in alle gevallen tot een verlaging van endotoxineconcentratie zal leiden (er wordt immers endotoxine bevattend stof verwijderd), kunnen stofreductiecijfers om de hierboven genoemde reden niet één op één worden toegepast als schatting voor de reductie van endotoxinen.

Hoewel veel onderzoek heeft plaatsgevonden naar stofreducerende maatregelen in stallen, zijn zeer weinig studies beschikbaar waarin tevens de reductie van endotoxinen is bepaald. In Canada vernevelde Siggers et al. (2011) koolzaadolie in twee afdelingen met vleesvarkens (10-40 ml/m²) en vonden gemiddelde reducties van 86% voor PM10 en 83% voor endotoxinen t.o.v. een controleafdeling zonder verneveling. T.a.v. 'end of pipe' systemen is enig onderzoek gedaan aan biobedden (biofilters) en luchtwassers. Martens et al. (2001) bestudeerden het effect van vijf pakkingsmaterialen in biobedden ('biochips', kokosnootvezel/-pulp, boomschors, pellets met boomschors en compost). De auteurs vonden voor alle vijf materialen een verwijdering van inhaalbaar endotoxine van meer dan 94%, maar reducties van inhaalbaar stof worden in deze publicatie niet gegeven. Ook in een studie van Seedorf en Hartung (1999) bij een vleesvarkensstal met een biobed wordt een verwijdering van totaal endotoxine van 62-74% gerapporteerd, maar geen verwijdering van de stofmassa. In dezelfde studie werd voor een biologische luchtwasser nageschakeld aan een vleesvarkensstal een verwijdering van stof gevonden van slechts 22% terwijl de endotoxineconcentratie bijna verdrievoudigde over de wasser en tevens de concentratie schimmels

toenam. De auteurs voeren aan dat emissies van kleine druppeltjes vervuild waswater hiervan de oorzaak kan zijn. Opgemerkt moet worden dat het hier slechts om een enkelvoudige waarneming gaat. De concentraties in het waswater bedroegen 162 EU/ml voor endotoxinen en 267 kiemvormende eenheden per ml voor Gram-negatieve bacteriën. In een andere studie beproefden Zucker et al. (2005) een combinatie van een biologische en chemische wasser op hun vermogen om stof en endotoxinen uit de ventilatielucht te verwijderen. In deze studie werden reducties gevonden van 86% voor inhaleerbaar stof, 91% voor endotoxinen en 50% voor gramnegatieve bacteriën. Concentraties in het waswater bedroegen hier 4100 EU/ml en 2300 kiemvormende eenheden per ml voor gramnegatieve bacteriën.

4.4 Emissies van endotoxinen bij mestopslag en -overslag

Emissies van stofdeeltjes en endotoxinen uit mestopslagen kunnen optreden wanneer de mest een voldoende hoog drogestofgehalte heeft, kleine deeltjes of druppeltjes in de lucht opgenomen worden door wind of mechanische kracht en via de lucht meegevoerd kunnen worden naar de omgeving. Dit is mogelijk wanneer opslagen geventileerd worden of voldoende open zijn, zodat verwaaiing kan plaatsvinden. Voor opslagen voor drijfmest⁵ en digestaat⁶ geldt dat deze voorzien moeten zijn van een afdekking⁷ ter voorkoming van gasvormige emissies, zodat endotoxine-emissies tijdens de opslag voor dit type als verwaarloosbaar ingeschat kunnen worden. Emissies kunnen optreden bij opslagen voor vaste mest⁸ of voor dikke fracties verkregen uit mestscheiding en bij het tijdelijk opslaan van mest op kopakkers, voorafgaand aan het aanbrengen van deze mest op het land. Activiteiten als het storten van mest in de opslag of het laden van mest vanuit de opslag zijn voorbeelden van mechanische krachten die tot emissies zouden kunnen leiden. Brooks et al. (2006) bepaalden endotoxineconcentraties tijdens het laden van rioolslib (20% drogestof) met een voorlader en vonden op een afstand tussen 2 en 50 m exponentieel afnemende concentraties (range: 5,6 – 1807 EU/m³). Op 2 m afstand benedenwinds van een (onaangerode) hoop rioolslib vonden zij concentraties tussen 48,9 en 207,1 EU/m³. Achtergrondconcentraties in deze studie bedroegen 2,3 – 3,8 EU/m³. In recent onderzoek naar emissies van droogtunnels werden zeer hoge concentraties van fijn stof gemeten bij het storten van gedroogde pluimveemest op de vloer van een opslagloods (Winkel et al., 2014a). Om piekemissies te voorkomen werd in dit onderzoek de mechanische ventilatie door de loods tijdens het storten stilgelegd. Er zijn geen studies bekend waarin emissies van stofdeeltjes of endotoxinen uit mestopslagen zijn vastgesteld.

4.5 Emissies van endotoxinen uit mestbehandelingsinstallaties

In de veehouderij worden uiteenlopende mestbehandelingen ingezet met als doel het mestvolume te verkleinen, micro-organismen in mest te reduceren of om componenten in de mest te concentreren, te verwijderen, te scheiden of om te zetten in andere componenten. Een overzicht van de belangrijkste vormen van mestbehandeling is weergegeven in Tabel 9. In het algemeen geldt dat zeer weinig informatie beschikbaar is rondom emissies uit mestbehandelingsinstallaties, o.a. vanwege de meettechnische moeilijkheden die daarbij een rol spelen, zoals het accuraat bepalen van luchtdebieten van installaties. Recent zijn eerste ervaringen opgedaan met emissiemetingen aan mestbehandelingsinstallaties (Mosquera et al., 2010a) op basis van een beknopt meetprotocol (Hoeksma and Mosquera, 2008). De Buisonjé et al. (2013) verrichtten recent een deskstudie naar gas- en deeltjesvormige emissies die een rol zouden kunnen spelen bij diverse

⁵ *Drijfmest*: een verpompbaar mengsel van voornamelijk mest en urine van minder dan 15% drogestof, doorgaans afkomstig uit stallen voor rundvee en varkens.

⁶ *Digestaat*: het restproduct van (co)vergisting van mest.

⁷ Activiteitenbesluit Milieubeheer, artikel 3.67.

⁸ *Vaste mest*: een stapelbaar mengsel van mest, urine en/of strooisel van meer dan 25% drogestof, doorgaans afkomstig uit huisvestingsystemen met mestbanden of strooiselvloeren.

mestbehandelingsinstallaties. Op grond hiervan is Tabel 9 opgesteld. Uit de inventarisatie van De Buissonjé et al. (2013) komt naar voren dat relevante emissies van fijn stof (en daarin aanwezige endotoxinen) met name verwacht mogen worden bij twee mestbehandelingsprocessen: composteren en drogen/indikken. Ook bij systemen met bassins in de open lucht zijn emissies mogelijk, aangezien deze ook gevonden worden uit bassins van rioolwaterzuiveringsinstallaties (Brooks et al., 2006). Bij processen in geheel gesloten systemen zijn emissies onwaarschijnlijk.

Tabel 9 Overzicht van mestbehandelingsprocessen en een inschatting van het optreden van emissies van endotoxinen. Samengesteld op basis van De Buissonjé et al. (2013)

Behandelings-proces	Omschrijven proces	Inschatting emissies van stofdeeltjes/druppeltjes
Vergisten	Het produceren van biogas (o.a. methaan, koolstofdioxide) uit drijfmest door micro-organismen in een zuurstofarme omgeving. Het restproduct wordt digestaat genoemd.	Geen – Processen spelen zich doorgaans af in een gesloten systeem
Scheiden	Het scheiden van drijfmest of digestaat in een dikke en dunne fractie d.m.v. zeefschermen/zeefbanden, trommelfilters, vijzelpersen, centrifuges, etcetera.	Geen – Processen spelen zich doorgaans af in een gesloten systeem
Omgekeerde osmose	De productie van een mineralenconcentraat (en een permeaat) uit de dunne fractie van drijfmest of digestaat (verkregen na scheiding) m.b.v. het persen door een semipermeabel membraan dat watermoleculen doorlaat en opgeloste zouten tegenhoudt.	Geen – Processen spelen zich doorgaans af in een gesloten systeem
Composteren	Het in aanwezigheid van zuurstof afbreken van een stapelbaar uitgangproduct tot humus door micro-organismen; variërend van extensief tot intensief (actief omwerken en/of beluchten).	Aanwezig – Ten gevolge van het beluchten/omwerken en het ventileren van de ruimte
Hygiëniseren	Het toepassen van een warmtebehandeling (>70 °C, 1 uur) voor het reduceren van micro-organismen en exportwaardig maken van drijfmest, digestaat en dikke fracties.	Geen – Er vindt geen ventilatie naar de buitenlucht plaats
Drogen en indikken	Het toevoegen van warmte aan het droogproduct om vocht te verdampen en het drogestofgehalte te verhogen, zoals indickers bij drijfmest en droogtunnels/droogzolders bij stapelbare mest.	Aanwezig – Soms stof filterend effect, hoge debieten, kans op piekmissies
Nitrificatie en denitrificatie	Het middels beluchting omzetten van ammoniumstikstof (uit een dunne fractie of kalvergier) in nitraat en vervolgens in stikstofgas, gevolgd door slibbezinking waarbij een stikstof- en fosfaatarm effluent ontstaat.	Mogelijk – Emissies door windinvloeden bij bassins in de open lucht
Strippen	Het actief laten vervluchtigen van ammoniak gevolgd door het opvangen in een zure vloeistof om daarmee een geconcentreerde stikstofbron te verkrijgen.	Mogelijk bij een open systeem, geen bij een gesloten systeem
Algen/kroos teelt	Het kweken van algen en kroos in bassins of in gesloten systemen waarbij mest (dunne fractie, digestaat) als voedingsstof in het kweekwater wordt gebruikt.	Mogelijk – Emissies door windinvloeden bij bassins in de open lucht

Composteren

Uit onderzoek bij composteringsinstallaties voor organisch afval is bekend dat hierbij – naast stofdeeltjes en micro-organismen – endotoxinen kunnen vrijkomen die zich via de lucht naar de omgeving kunnen verspreiden (Deacon et al., 2009; Hryhorczuk et al., 2001; Pankhurst et al., 2011; Sánchez-Monedero and Stentiford, 2003). Onduidelijk is in welke mate dergelijke emissies optreden uit composteringsinstallaties voor mest. In de Verenigde Staten zijn twee studies verricht waarin buitenluchtconcentraties van endotoxinen zijn bepaald rondom mestcomposteringsinstallaties. Ko et al. (2010) bepaalden endotoxineconcentraties in de buitenlucht 150 m bovenwinds en 150 m benedenwinds van 17 varkensbedrijven in de staat North Carolina met verschillende mestbehandelingsinstallaties. In totaal werden tussen april 2002 en augustus 2004 op deze bedrijven 236 metingen uitgevoerd (middelingstijd: 4 uur; tussen 3 en 28 metingen per bedrijf). De twee bedrijven met een open composteringsinstallatie (met 14 en 8 metingen) lieten echter zeer vergelijkbare bovenwindse en benedenwindse concentraties zien. Dungan en Leytem (2009) voerden vergelijkbare metingen uit bij een composteringslocatie voor rundveemest in de staat Idaho. In totaal werden 9 monsters genomen over drie zomerdagen (middelingstijd: 3 uur). Ook in deze studie waren benedenwindse concentraties niet significant verschillend van bovenwindse concentraties (36 EU/m³ benedenwinds versus 24 EU/m³ bovenwinds). Het gaat hier om slechts twee in de VS uitgevoerde studies, zodat op grond hiervan geen conclusies kunnen worden getrokken voor de Nederlandse situatie. Voor installaties die gangbaar zijn in Nederland zijn geen gegevens gevonden.

Drogen/indikken

Er is recent onderzoek voorhanden t.a.v. fijnstofemissies uit droogsystemen voor pluimveemest (Winkel et al., 2014a; Winkel et al., 2011a). Hieruit blijkt dat de plakkerige mestlaag in deze installaties in staat is om stofdeeltjes uit de ventilatielucht van pluimveestallen te filteren. Daarmee hebben deze systemen een reducerend effect op emissies van stof en de endotoxinen die daarin voorkomen. Bij het draaien van de installaties (vullen, doordraaien en uitstorten) ontstaan echter hoge concentraties van stof. Wanneer de ventilatie door het droogstelsel niet wordt stilgelegd kunnen hoge, kortstondige emissies van stof en de daarin aanwezige endotoxinen naar de omgeving optreden.

Overige mestscheidingsprocessen

In de eerder besproken studie van Ko et al. (2010) werden hogere benedenwindse concentraties (op 150 m; t.o.v. bovenwindse concentraties) gevonden bij een varkensbedrijf met mestscheiding (163,7 versus 37,9 EU/m³) en een varkensbedrijf met een combinatie van o.a. mestscheiding en nitrificatie/denitrificatie (33,5 versus 7,7 EU/m³). Bij beide bedrijven waren systemen opgesteld in de open lucht. Bij 13 van de 17 varkensbedrijven in deze studie werden hogere benedenwindse concentraties gevonden; bij twee bedrijven was sprake van een significant verschil, bij vier bedrijven was sprake van een trend ($P < 0,10$). Dit beeld suggereert dat de onderzochte bedrijven bijdroegen aan endotoxineconcentraties in de omgeving. Echter, naast de emissies vanuit mestbehandelingsinstallaties hebben waarschijnlijk ook de emissies vanuit de stallen daaraan (belangrijk) bijgedragen.

Resumerend kan gesteld worden dat zeer weinig informatie beschikbaar is rondom emissies van endotoxinen uit mestbehandelingsinstallaties. Met de thans beschikbare kennis lijken emissies mogelijk bij de processen composteren, drogen/indikken, nitrificatie/denitrificatie, strippen en de teelt van algen/kroos. Voor het kunnen vaststellen van emissies uit deze processen is een verdere ontwikkeling van meetmethoden vereist.

4.6 Emissies van endotoxinen tijdens mestaanwending

Het aanwenden van mest op het land kan op twee manieren bijdragen aan endotoxineconcentraties in de buitenlucht: door directe emissies tijdens het aanbrengen van de mest (par. 4.6) en door indirecte emissies t.g.v. verwaaiing vanuit de bodem en het gewas op een later moment (par. 4.7). In de eerste situatie gaat het om kortdurende emissies die optreden met een frequentie tussen éénmaal en viermaal per perceel per jaar. Emissies vanuit (bemeste) bodems en gewassen zouden zich gedurende langere perioden kunnen uitstrekken.

Om verluchting van ammoniak bij het bemesten van de bodem te voorkomen, dient dierlijke mest in Nederland sinds eind jaren tachtig van de vorige eeuw emissiearm te worden aangewend. Drijfmest wordt daarbij op de bodem of in sleufjes in de bodem aangebracht (De Haan et al., 2009). Emissies van endotoxine-bevattende aerosolen tijdens het op deze wijze aanwenden van drijfmest zullen naar verwachting beperkt zijn. Bij het conventioneel bovengronds uitrijden – waarbij drijfmest in een brede waaier vanuit een 'giertank' over het gewas en de bodem wordt uitgeworpen – ligt de vorming van endotoxine bevattende aerosolen meer voor de hand. Deze mest moet in Nederland wel direct worden ondergewerkt. Aerosolvorming ligt tevens voor de hand bij het aanwenden van vaste mest, wanneer deze vanuit een mestwagen met roterende vijzels over het gewas en bodem wordt uitgeworpen. Bij deze manier van aanwending dient de mest bij bouwland te worden ondergewerkt, bij grasland niet. Emissies kunnen ook optreden wanneer de mest wordt ondergewerkt. Zoals recent geconcludeerd in een rapport van Groenestein et al. (2010) is slechts weinig informatie beschikbaar t.a.v. directe emissies van fijn stof (zwevende deeltjes en druppeltjes; alsook de endotoxinen daarin) tijdens het aanwenden van mest.

Aanwending van drijfmest

In Denemarken vonden Madsen et al. (2006) endotoxineconcentraties in een range tussen ca. 0,1 en 10 EU/m³ op 200 m afstand benedenwinds van een perceel waar op dat moment varkensdrijfmest werd aangebracht (op de bodem middels een trekker/mesttank met sleufkouter; A.M. Madsen, persoonlijke communicatie). In deze studie werden echter geen bovenwindse metingen uitgevoerd zodat niet vastgesteld kan worden of de mestaanwending heeft bijgedragen aan de gevonden concentraties. Ook een recente congrespublicatie n.a.v. eerste fijnstofmetingen bij verschillende methoden van aanwending van rundveedrijfmest laat het trekken van conclusies nog niet toe (Jahne et al., 2011). In eerdere Deense proef werd drijfmest van rundvee en biggen aangebracht tijdens drie verschillende proefdagen in april-mei 2003 op het eiland Seeland (Madsen and Johansen, 2003). Voor aanwending werd een achtergrondconcentratie bepaald terwijl tijdens mestaanwending een benedenwindse meting werd uitgevoerd (middelingstijd: 75–120 min). Tijdens het aanbrengen van drijfmest nam de endotoxineconcentratie toe van 1,9 naar 4,3 EU/m³ (proefdag 1, rundveedrijfmest, $n = 5$), van 0,18 naar 0,94 EU/m³ (proefdag 2, varkensdrijfmest, $n = 2$), en van 2,5 naar 3,5 ($n = 6$). Deze data laten lichte verhogingen zien van de endotoxineconcentratie.

Uitrijden en onderwerken van 'biosolids' (rioolslib)

T.a.v. stof- en endotoxine emissies bij het uitrijden en onderwerken van rioolslib is enig onderzoek uitgevoerd in de Amerikaanse staat Arizona.

Brooks et al. (2006) dienden rioolslib (20% drogestof) toe aan droge, braakliggende percelen waarbij het product met een worplengte van ca. 15 m uit een wagen/trekker combinatie werd verspreid. Op 10 m afstand werden verhoogde endotoxineconcentraties gemeten (gemiddeld ca. 100 EU/m³, maximum: 142,9 EU/m³; achtergrond: 2,3–3,8 EU/m³), maar uit de studie bleek dat het grootste deel van het endotoxine uit de bodem afkomstig was en door de bewegende landbouwvoertuigen in de lucht werd gebracht.

Paez-Rubio et al. (2006) bestudeerden de emissies van fijn stof (PM₁₀) en endotoxinen bij het omwerken van de bodem met een schijveneg op proefveldjes met en zonder pas aangebracht rioolslib (vergist; 20–30% drogestof). De benedenwindse concentraties van endotoxinen waren echter zeer vergelijkbaar, terwijl lagere PM₁₀ concentraties door de auteurs verklaard worden uit een hoger vochtgehalte van de droge bodems waarop rioolslib was aangebracht.

Een vrijwel identieke proef werd uitgevoerd door Low et al. (2007), waarbij vooral gekeken werd naar de emissiepluimen van fijn stof (PM₁₀). Op 5 m afstand van de schijveneg werden zeer hoge PM₁₀-concentraties gemeten (ca. 10.000 µg/m³); deze nauwe pluimen strekten zich benedenwinds tot tenminste 165 m uit (ca. ~100 µg/m³). De concentratiegradiënten waren echter vergelijkbaar tussen proefveldjes met en zonder aangebracht rioolslib. Dit zou kunnen betekenen dat het fijn stof voornamelijk uit bodemdeeltjes bestond.

Om versturende bodememissies door rijdende landbouwvoertuigen te voorkomen en alleen de emissies uit rioolslib te karakteriseren, verrichtten Paez-Rubio et al. (2007) metingen aan een stationair draaiende mestwagen waaruit rioolslib (vergist; 20–30% drogestof) werd uitgeworpen. Op 1,5 m buiten de worplengte van de mestwagen werden de emissies bepaald middels gridmetingen. De aldaar gemeten concentraties bedroegen 1180 µg/m³ voor PM₁₀ (achtergrond: 17 µg/m³) en 2300 EU/m³ voor endotoxinen (achtergrond: 33 EU/m³). De berekende emissies bedroegen 10,1 mg PM₁₀ per s en $2,1 \times 10^4$ EU per s voor endotoxinen bij aanwending van 110 kg drogestof per minuut.

Bedacht moet worden dat de vier besproken studies zijn uitgevoerd bij droge (woestijn)bodems, een heet klimaat en (vergist) rioolslib i.p.v. mest. Op grond van deze studies kunnen daarom geen algemene conclusies worden getrokken ten aanzien van de situatie in Nederland of Noordwest-Europa. Ook in de Nederlandse situatie zijn emissies tijdens het aanwenden van mest of tijdens landbewerking vermoedelijk afhankelijk van het specifieke vochtgehalte van de bodem (Groenestein et al., 2010) en van meteorologische omstandigheden.

Bodeminjectie van vloeibaar afvalwater/rioolslib

Akbar-Khanzadeh et al. (2012) dienden in de Amerikaanse staat Ohio afvalwater/rioolslib toe aan een proefveld (d.m.v. een injecteur, diepte ca. 30 cm) en vonden benedenwinds geen verhoogde concentraties van respirabel stof. Aangezien slechts enkele metingen werden uitgevoerd op één proefveld in de Amerikaanse staat Ohio, kunnen op grond van deze studie geen conclusies worden getrokken. De auteurs concluderen dat het injecteren in de bodem omwonenden mogelijk beschermt

tegen emissies van fijn stof t.o.v. conventionele manieren van toediening, maar tevens dat nader onderzoek nodig is om deze conclusie te verifiëren.

Resumerend geven de besproken studies voorzichtige aanwijzingen dat emissies van endotoxinen kunnen optreden bij het uitwerpen van vaste mest op land en in enige mate bij het op de bodem aanbrengen van drijfmest. Onbekend is op dit moment of emissies optreden bij het uitwerpen of injecteren van drijfmest. Emissies kunnen tevens afkomstig zijn uit de bodem wanneer bodemdeeltjes in de lucht worden gebracht door de landbouwvoertuigen, nog afgezien van de emissies die uit mest optreden. Naar beste weten van de auteurs zijn geen onderzoeksgegevens beschikbaar rondom emissies van endotoxinen bij mestaanwending in Noordwest-Europa.

4.7 Emissies van endotoxinen uit bodem en gewas

Door aanwending van mest op land (op het gewas, op de bodem of in de bodem) wordt een product in het milieu gebracht dat zeer rijk is aan fecale micro-organismen en endotoxinen. Van sommige bacteriesoorten is bekend dat het aantal kolonievormende eenheden per gram mest uiteen kan lopen van 10^2 tot 10^7 (Aarnink et al., 2014c). In par. 3.1 is beschreven dat in mest hoge endotoxinegehalten voorkomen, hoger dan in andere stofbronnen zoals voer, stro(oisel), urine of drinkwater, maar binnen de range vallen van gehalten in rioolslib (612 tot $5,7 \times 10^6$ EU/mg; oorspronkelijke data omgerekend naar EU/mg) in de studies van Brooks et al. (2007) en Paez-Rubio et al. (2007). De gevonden gehalten in mest en rioolslib zijn ook aanzienlijk hoger dan die in grondmonsters van akkers in Arizona (VS), welke uiteenliepen van ca. 1 tot 100 EU/mg (Brooks et al., 2007). De bodem, gewassen en grondwater/oppervlaktewater bevatten echter – ook zonder mestaanwending – ‘van nature’ endotoxinen doordat gramnegatieve bacteriën aanwezig zijn in de bodem en op planten en na afsterven degraderen tot endotoxinen (Di Luzio and Friedmann, 1973; Rylander, 2002).

Veel is nog onbekend over de overleving en verspreiding van fecale micro-organismen in bodems, hun afbraak tot endotoxinen, de stabiliteit van endotoxinen in de bodem, grondwater en oppervlaktewater, de mogelijke verwaaiing van endotoxinen vanuit bemeste bodems en gewassen, en de eventuele gezondheidsrisico's die daarbij kunnen ontstaan (Dungan, 2010; Gattie and Lewis, 2004; Gerba and Smith Jr, 2005; Mawdsley et al., 1995).

De stabiliteit van endotoxinen in verschillende producten is in kaart gebracht door Zucker en Müller (2004b). De auteurs bemonsterden vijf categorieën materialen: mest (gedroogde pluimveemest, gedroogde rundermest, gedroogde varkensmest), voer (leghennenvoer), strooisel (stro en hooi), gesedimenteerd stof (pluimveestral en schapenstral) en vloeistoffen (varkensgier en drinkwater uit een schapenstral). Na een incubatieperiode van 84 dagen bij 10–25 °C en 40–80% relatieve luchtvochtigheid bleken endotoxinegehalten (EU/g) in de eerste vier categorieën weinig veranderd. In drinkwater nam het gehalte met ruim 90% af (halfwaardetijd: 3–4 weken), terwijl in varkensgier zowel perioden van toe- als afname optraden, vermoedelijk door groei en sterfte van gramnegatieve bacteriën en afbraak van endotoxinen. Er is geen literatuur gevonden t.a.v. de stabiliteit van endotoxinen op of in de bodem.

Goyal et al. (1980) bestudeerden de opname van endotoxinen (uit rioolslib) door een kolom gevuld met een grondmonster van zand en leem. Na toediening van rioolslib op de kolom werd in de toplaag (<10 cm) een hoog endotoxinegehalte gevonden, welke op 15, 35, 75 en 95 cm kolomdiepte afnam tot ca. 84%, 60%, 15% en 6% van die in de toplaag. Na het simuleren van neerslag (door steriel water op de kolom aan te brengen), zakten de endotoxinen in een nauwe band, waarvan de diepte afhankelijk was van de hoeveelheid aangebracht water. Dit experiment suggereert dat endotoxinen uit mest/rioolslib in de bodem worden opgenomen na regenval. Brooks et al. (2007) en Paez-Rubio et al. (2006) dienden rioolslib toe aan akkers in de Amerikaanse staat Arizona, maar vonden geen wezenlijke toenames van het endotoxinegehalte in de betreffende woestijnbodems. Er is geen literatuur gevonden over eventuele verwaaiing van endotoxinen vanuit de bodem of het gewas na mestaanwending.

Enkele studies die worden besproken in par. 5.1 suggereren dat achtergrondconcentraties van endotoxinen in rurale gebieden met veel veehouderijbedrijven hoger zijn dan die van steden of rurale gebieden zonder veehouderij (Hartung and Seedorf, 1999; Heederik et al., 2011; Schulze et al., 2006). Onduidelijk is echter wat hierbij de relatieve bijdragen zijn van stalemissies, mestaanwending en emissies uit bodem en gewas.

4.8 Samenvattende conclusies hoofdstuk 4

Er is slechts een handvol studies beschikbaar waarin naast concentraties van endotoxinen in stallucht, tevens debieten zijn gemeten en emissies zijn bepaald. Geen van deze studies is volgens een vast protocol zoals voor fijnstof- en ammoniakemissies uitgevoerd, waardoor het niet mogelijk is om op basis hiervan emissieniveaus af te leiden. Variatiebronnen van endotoxine-emissies zijn niet bekend. Het is te verwachten dat deze overeenkomsten vertonen met die van stof. Omdat endotoxinen afkomstig zijn van groeiende organismen, zullen ze naar verwachting ook enkele specifieke endotoxine-eigen variatiebronnen hebben. Er zijn slechts enkele studies voorhanden waarin de verwijdering van endotoxine door een emissiereductietechniek is vastgesteld. Veel kennis is aanwezig t.a.v. fijnstofreductietechnieken. Echter, verwijderingsrendementen van deze technieken voor PM10 kunnen niet één op één worden toegepast op endotoxinen omdat reductietechnieken deeltjes van verschillende grootte met een verschillende efficiëntie verwijderen en aanwijzingen bestaan dat endotoxinen ongelijk verdeeld zijn over deze verschillende deeltjesgrootteklassen. Naast emissies uit stallen lijken emissies ook mogelijk bij mestopslag en mestoverslag en bij de mestbehandelingsprocessen: composteren, drogen/indikken, nitrificatie/denitrificatie, strippen en de teelt van algen/kroos. Voor het kunnen vaststellen van emissies uit deze processen is een verdere ontwikkeling van meetmethoden vereist. Verder bestaan aanwijzingen dat emissies van endotoxinen kunnen optreden bij het uitwerpen van vaste mest op land en in enige mate bij het op de bodem aanbrengen van drijfmest. Onbekend is of emissies optreden bij het uitwerpen of injecteren van drijfmest. Emissies kunnen tevens afkomstig zijn uit de bodem wanneer bodemdeeltjes in de lucht worden gebracht door de landbouwvoertuigen. Met aanwending van mest op land wordt een product in het milieu gebracht dat rijk is aan micro-organismen en endotoxinen. Veel is nog onbekend over de overleving en verspreiding van fecale micro-organismen in bodems, hun afbraak tot endotoxinen, de stabiliteit van endotoxinen in de bodem, grondwater en oppervlaktewater, de mogelijke verwaaiing van endotoxinen vanuit bemeste bodems en gewassen, en de eventuele gezondheidsrisico's die daarbij kunnen ontstaan.

5 Endotoxinen in de buitenlucht

5.1 Achtergrondconcentraties van endotoxinen in de buitenlucht

Om een indruk te krijgen van de achtergrondconcentraties die in de buitenlucht verwacht mogen worden, wordt in Tabel 10 een overzicht gegeven van studies welke endotoxineconcentraties in de buitenlucht hebben bepaald. Daarbij wordt onderscheid gemaakt tussen metingen uitgevoerd in rurale gebieden en stedelijke gebieden. Van elke studie wordt een beschrijving gegeven van de meetlocatie(s), de meetperiode in het jaar, de tijdsduur van bemonstering (d. w.z. de middelingstijd van de gerapporteerde concentraties), de stoffractie waarin het endotoxinegehalte is bepaald en de endotoxineconcentraties die zijn aangetroffen.

In twee studies zijn buitenluchtconcentraties gemeten in rurale gebieden met weinig of geen veehouderij (Heinrich et al., 2003; Menetrez et al., 2009), waarvan de eerste in centraal Duitsland, de tweede in de Verenigde Staten. In beide studies werd de endotoxineconcentratie in de PM10 en PM2,5 fractie gemeten. De gemiddelde en hoogst gemeten buitenluchtconcentraties in deze gebieden lagen onder 0,3 EU/m³. De middelingstijd in de Duitse studie was echter zeer lang (123–193 uur). In de Amerikaanse studie waren middelingstijden korter; bij 10–24 uur werden buitenluchtconcentraties gemeten tot 0,08 EU/m³.

In twee Duitse studies zijn buitenluchtconcentraties van endotoxine (in inhaleerbaar stof en totaalstof) gemeten in graslanden, akkers en achtertuinen in gebieden met veel veehouderijbedrijven, waarbij meetposities zijn gekozen buiten emissiepluimen van bedrijven in het gebied (Hartung and Seedorf, 1999; Schulze et al., 2006). De gemiddelde buitenluchtconcentraties op deze locaties lagen in een range tussen ca. 2 en 4 EU/m³, met maxima van ca. 14 en 23 EU/m³. Wanneer in ogenschouw wordt genomen dat de middelingstijd in deze studies varieerde van 20–30 min tot ca. 24 uur, is een overschrijding van het advies van de Gezondheidsraad (30 EU/m³ over een middelingstijd van 4 tot 8 uur) tijdens sommige metingen mogelijk geweest.

Schulze et al. (2006) verrichten tevens vergelijkende buitenluchtmetingen in een nabijgelegen stad (Oldenburg, 44 km noordwaarts) en vonden daar een gemiddelde concentratie (middelingstijd: 24 uur) van 0,6 EU/m³. De auteurs concluderen dat bewoners van gebieden met veel veehouderijbedrijven mogelijk aan hogere buitenluchtconcentraties blootstaan dan inwoners van steden. Ook in het IVG-onderzoek werden in rurale gebieden met veehouderijbedrijven hogere concentraties van fijn stof en endotoxinen gemeten dan in een stedelijke referentieomgeving (Heederik et al., 2011). De gemiddelde PM10 concentraties (middelingstijd: 7 dagen) van rurale meetstations liepen uiteen van 19,6 tot 22,2 µg/m³ (range: 9,2–34,0) tegen gemiddeld 16,1 µg/m³ (range: 9,8–27,9) voor het stedelijke referentiestation. Voor endotoxine varieerden gemiddelde concentraties tussen 0,21 en 0,31 EU/m³ (range: 0,06–0,75) tegen 0,16 EU/m³ (range: 0,06–0,43) voor het stedelijke referentiestation.

Informatie t.a.v. buitenluchtconcentraties in rurale gebieden kan tevens verkregen worden door te kijken naar bovenwindse metingen in studies naar concentratiegradiënten rondom veehouderijbedrijven (Tabel 11, par. 5.2). Daarbij is vooral de studie van Heederik et al. (2011) relevant waarin concentraties zijn bepaald nabij twee varkensbedrijven, een pluimveebedrijf en een nertsenbedrijf in Nederland (middelingstijd: 6 uur). De bovenwindse buitenluchtconcentraties (gemeten tussen juni en oktober; wanneer relatief hoge ventilatie- en emissieniveaus voorkomen op veehouderijbedrijven) lagen alle rond of onder 1 EU/m³, ver beneden de door de Gezondheidsraad genoemde 30 EU/m³. In de gradiëntmetingen uitgevoerd in deze studie bij vier Nederlandse

veehouderijbedrijven werden endotoxineconcentraties (in inhaleerbaar stof en PM10) gemeten op het meetpunt 30 meter benedenwinds het pluimveebedrijf tot ca. 50 EU/m³, hetgeen op die meetpositie een overschrijding betekende van de door de Gezondheidsraad voorgestelde grenswaarde van 30 EU/m³.

Tabel 10 Overzicht van studies naar concentraties van endotoxinen in de buitenlucht

Eerste auteur (jaar)	Land	Locatie	Meetperiode	Tijdsduur bemonst.	Stoffractie	Endotoxinen [EU/m ³]					
						Gem.	Min.	Max.			
a. Rurale omgeving											
Heederik (2011)	NL	5 meetstations in veehouderijgebied	Jun-okt	7 dagen	PM10	0,21-0,31 ^a	0,06	0,75			
Strak (2012)	NL	Op erf varkensbedrijf	Mrt-okt	5 uren	PM10	17	11	44			
Hartung (1999)	D	11 Gras-/akervelden in veehouderijgebied	Mrt-dec; 3 jaren	20-30 min ~24 uur	Totaalstof	3,64 ^b	0,18	12,74			
Schulze (2006)	D	32 Achtertuinen in veehouderijgebied	Winter	24 uur	Inhaleerb.	1,98 ^a	0,66	19,98			
			Zomer	24 uur	Inhaleerb.	2,95 ^a	0,66	23,22			
Heinrich (2003)	D	Hettstedt (20.000 inw.), weinig veeh.	Jan-jun	123-193 uur	PM2,5	0,006 ^a	0,002	0,021			
		Zerbst (20.000 inw.), weinig veehouderij	Jan-jun	123-193 uur	PM2,5-10	0,063 ^a	0,010	0,240			
Traversi (2011)	IT	Riva (3600 inw.), op 50 m van varkensstal (1000 dieren)	Zomer	4 uur	PM10	0,331 ^c (SD 0,137)	-	-			
		Fiano (2800 inw.), op 50 m van kippenstal (41.800 dieren)	Zomer	4 uur	PM10	1,424 ^c (SD 0,100)	-	-			
Menetrez (2009)	USA	Orange County, NC (bebost)	Mrt-mei	10-24 uur	PM2,5	0,023 ^c	0,010	0,037			
					PM10	0,051 ^c	0,024	0,080			
b. Stedelijke omgeving											
Heederik (2011)	NL	Referentiestation, Utrecht	Jun-okt	7 dagen	PM10	0,16 ^a	0,06	0,43			
Strak (2012)	NL	Verkeerssites/steden	Mrt-okt	5 uren	PM10	0,4-1	0,3	1			
Hartung (1999)	D	Grote stad met industrie	Mrt-dec; 3 jaren	<24 uur	Totaalstof	1,62 ^b	0,18	3,84			
Carty (2003)	D	München	Mrt '99-jul '00	42 uur	PM2,5	0,015 ^a	0,001	0,740			
Morgenstern (2005)	D	München	Mrt '99-jul '00	42 uur	PM2,5	0,019 ^a	0,009	0,034			
					PM10	0,081 ^a	0,041	0,141			
Schulze (2006)	D	Oldenburg	-	24 uur	Inhaleerb.	0,6	-	-			
Zucker (2004a)	D	Berlijn	Aug-nov	4 uur	Inhaleerb.	-	<3,0	27,8			
Madsen (2006)	DK	Copenhagen, centrum	Mei	4-6 uur	Inhaleerb.	4,4 ^b	ca. 2	ca. 9			
		Industriegebieden	Jan-feb en okt-dec	4-6 uur	Inhaleerb.	1,3 ^b	ca. 0,2	ca. 10			
Nilsson (2011)	SE	Stockholm	Mei-sep	42 uur	Dorpen	Jan-apr en nov-dec	4-6 uur	Inhaleerb.	0,33 ^b	ca. 0,02	ca. 9
					PM2,5	0,015 ^a	0,005	0,064			
Traversi (2011)	IT	Torino	Zomer	4 uur	PM10	0,050 ^a	0,020	0,107			
					PM10	0,512 ^c (SD 0,043)	-	-			
Menetrez (2009)	USA	Denver, CO	Jan-mrt	22-25 uur	PM2,5	0,006 ^c	~0	0,019			
Mueller-A. (2004)	USA	Zuid-California	Jaarrond ('00-'01)	24 uur	PM10	0,44 ^a	0,03	5,44			
Tager (2010)	USA	Fresno CA	Jaarrond ('01-'04)	24 uur	PM10	1,23 ^a	~0	9,43			
Allen (2011)	CAN	Prince George	Okt '05	24 uur	PM2,5	0,15 ^c	-	-			
			-sep '06	24 uur	PM10	0,40 ^c	-	-			
			Okt '05	24 uur	PM2,5	0,16 ^c	-	-			
		Kelowna	-sep '06	24 uur	PM10	0,67 ^c	-	-			

^a Meetkundig (geometrisch) gemiddelde, ^b mediaan, ^c rekenkundig gemiddelde

veehouderijbedrijven werden endotoxineconcentraties (in inhaleerbaar stof en PM10) gemeten op het meetpunt 30 meter benedenwinds het pluimveebedrijf tot ca. 50 EU/m³, hetgeen op die meetpositie een overschrijding betekende van de door de Gezondheidsraad voorgestelde grenswaarde van 30 EU/m³.

Tabel 10 Overzicht van studies naar concentraties van endotoxinen in de buitenlucht

Eerste auteur (jaar)	Land	Locatie	Meetperiode	Tijdsduur bemonst.	Stoffractie	Endotoxinen [EU/m ³]		
						Gem.	Min.	Max.
a. Rurale omgeving								
Heederik (2011)	NL	5 meetstations in veehouderijgebied	Jun-okt	7 dagen	PM10	0,21-0,31 ^a	0,06	0,75
Strak (2012)	NL	Op erf varkensbedrijf	Mrt-okt	5 uren	PM10	17	11	44
Hartung (1999)	D	11 Gras-/akervelden in veehouderijgebied	Mrt-dec; 3 jaren	20-30 min ~24 uur	Totaalstof	3,64 ^b	0,18	12,74
Schulze (2006)	D	32 Achtertuinen in veehouderijgebied	Winter	24 uur	Inhaleerb.	1,98 ^a	0,66	19,98
			Zomer	24 uur	Inhaleerb.	2,95 ^a	0,66	23,22
Heinrich (2003)	D	Hettstedt (20.000 inw.), weinig veeh.	Jan-jun	123-193 uur	PM2,5	0,006 ^a	0,002	0,021
		Zerbst (20.000 inw.), weinig veehouderij	Jan-jun	123-193 uur	PM2,5-10	0,063 ^a	0,010	0,240
Traversi (2011)	IT	Riva (3600 inw.), op 50 m van varkensstal (1000 dieren)	Zomer	4 uur	PM10	0,331 ^c (SD 0,137)	-	-
		Fiano (2800 inw.), op 50 m van kippenstal (41.800 dieren)	Zomer	4 uur	PM10	1,424 ^c (SD 0,100)	-	-
Menetrez (2009)	USA	Orange County, NC (bebost)	Mrt-mei	10-24 uur	PM2,5	0,023 ^c	0,010	0,037
					PM10	0,051 ^c	0,024	0,080
b. Stedelijke omgeving								
Heederik (2011)	NL	Referentiestation, Utrecht	Jun-okt	7 dagen	PM10	0,16 ^a	0,06	0,43
Strak (2012)	NL	Verkeerssites/steden	Mrt-okt	5 uren	PM10	0,4-1	0,3	1
Hartung (1999)	D	Grote stad met industrie	Mrt-dec; 3 jaren	<24 uur	Totaalstof	1,62 ^b	0,18	3,84
Carty (2003)	D	München	Mrt '99-jul '00	42 uur	PM2,5	0,015 ^a	0,001	0,740
Morgenstern (2005)	D	München	Mrt '99-jul '00	42 uur	PM2,5	0,019 ^a	0,009	0,034
					PM10	0,081 ^a	0,041	0,141
Schulze (2006)	D	Oldenburg	-	24 uur	Inhaleerb.	0,6	-	-
Zucker (2004a)	D	Berlijn	Aug-nov	4 uur	Inhaleerb.	-	<3,0	27,8
Madsen (2006)	DK	Copenhagen, centrum	Mei	4-6 uur	Inhaleerb.	4,4 ^b	ca. 2	ca. 9
		Industriegebieden	Jan-feb en okt-dec	4-6 uur	Inhaleerb.	1,3 ^b	ca. 0,2	ca. 10
Nilsson (2011)	SE	Stockholm	Mei-sep	42 uur	PM2,5	0,015 ^a	0,005	0,064
					PM10	0,050 ^a	0,020	0,107
Traversi (2011)	IT	Torino	Zomer	4 uur	PM10	0,512 ^c (SD 0,043)	-	-
Menetrez (2009)	USA	Denver, CO	Jan-mrt	22-25 uur	PM2,5	0,006 ^c	~0	0,019
Mueller-A. (2004)	USA	Zuid-California	Jaarrond ('00-'01)	24 uur	PM10	0,44 ^a	0,03	5,44
Tager (2010)	USA	Fresno CA	Jaarrond ('01-'04)	24 uur	PM10	1,23 ^a	~0	9,43
Allen (2011)	CAN	Prince George	Okt '05	24 uur	PM2,5	0,15 ^c	-	-
			-sep '06		PM10	0,40 ^c	-	-
			Okt '05	24 uur	PM2,5	0,16 ^c	-	-
		Kelowna	-sep '06		PM10	0,67 ^c	-	-

^a Meetkundig (geometrisch) gemiddelde, ^b mediaan, ^c rekenkundig gemiddelde

Buitenluchtconcentraties van endotoxinen zijn waarschijnlijk afhankelijk van de positie t.o.v. natuurlijke of antropogene bronnen in de omgeving (benedenwinds of bovenwinds; spatiale variatie) en van seizoensinvloeden (temporale variatie). In het algemeen worden in studies op het noordelijk halfrond de hoogste buitenluchtconcentraties gevonden tussen circa mei en september, d.w.z. in het voorjaar en de zomer (Allen et al., 2011; Carty et al., 2003; Hartung and Seedorf, 1999; Heinrich et al., 2003; Madsen, 2006; Tager et al., 2010; Zucker and Müller, 2004a). Voor dit seizoenseffect worden diverse verklaringen geopperd, waaronder de aanwezigheid van loof aan vegetatie als bron van endotoxinen, verstuiwing van bodemdeeltjes, gunstige meteorologische omstandigheden voor de groei van gramnegatieve bacteriën en temperatuurinversies in de atmosfeer waaronder luchtverontreinigingen kunnen ophopen.

Resumerend laten de besproken studies zien dat de achtergrondconcentraties in het algemeen beduidend lager zijn dan de door de Gezondheidsraad voorgestelde grenswaarde van 30 EU/m³. Verhoogde concentraties worden vooral waargenomen in de nabijheid van natuurlijke of antropogene bronnen (b.v. veehouderijbedrijven). Opvallend is dat studies die inhaleerbaar stof en/of totaalstof bemonsteren in het algemeen hogere endotoxineconcentraties rapporteren, ook bij langere middelingsduren. Dit dient in overweging genomen te worden voor het beoordelingskader.

5.2 Concentratiegradiënten van stof en endotoxinen rondom veehouderijen

In stallucht komen hoge concentraties van stofdeeltjes en endotoxinen voor (par. 3.4) die via natuurlijke of mechanische ventilatie worden uitgeworpen naar de buitenlucht (par. 4.1). Hierdoor ontstaat buiten de stal een zogenaamde 'emissiepluim'. Deze pluim ontspringt grotendeels in de emissieopening(en) van het stalgebouw en strekt zich benedenwinds uit. Er is een beperkt aantal studies voorhanden waarin concentraties van stof (samengevat in Tabel 11) en endotoxinen (samengevat in Tabel 12) in de nabije omgeving van stallen is gemeten. In deze tabellen wordt van elke studie een beschrijving gegeven van de meetlocatie(s) en meetperiode, de bemonsterde stoffractie, en de concentraties (of concentratietoenames) die bovenwinds en benedenwinds van het stalgebouw op diverse afstanden zijn aangetroffen.

Uit Tabellen 11 en 12 blijkt dat emissiepluimen van stofdeeltjes en endotoxinen benedenwinds van stalgebouwen daadwerkelijk kunnen worden gedetecteerd. In de stal én direct buiten de stal, benedenwinds van het emissiepunt, worden verhoogde concentraties vastgesteld ten opzichte van bovenwindse meetposities. Concentraties nemen af met de afstand tot de stal door impactie en sedimentatie (naar de bodem, vegetatie, objecten), maar vooral doordat verdunning optreedt met relatief schone buitenlucht.

Dit beeld is in overeenstemming met een studie van Bull (2008) welke buitenluchtmetingen verrichte nabij een vleeskuikenbedrijf in het Verenigd Koninkrijk. De onderzoekers stelden vast dat PM10 concentraties gemiddeld ca. 12 µg/m³ hoger waren wanneer de wind uit de richting van het vleeskuikenbedrijf kwam t.o.v. tegenovergestelde windrichtingen. In de Verenigde Staten vonden Williams et al (2011) aanwijzingen dat concentraties van stof, ammoniak en specifieke koe-allergenen in huizen afnamen met de afstand tot melkveebedrijven in het onderzoeksgebied. Een dergelijke relatie werd overigens niet gevonden voor endotoxineconcentraties in Nederlandse huizen rondom intensieve veehouderijbedrijven (Heederik et al., 2011), waarschijnlijk omdat endotoxine binnenshuis ook afkomstig kan zijn van andere bronnen dan veehouderij. Li et al. (2012) verrichtten metingen van PM2,5 op ca. 284 m van een groot leghennenbedrijf in de Verenigde Staten en concludeerden dat deze concentraties positief gecorreleerd waren met de emissieniveaus van fijn stof uit de stallen.

Tabel 11 Overzicht van studies naar stofconcentraties in de buitenlucht bovenwinds en benedenwinds van veehouderijen. Benedenwindse concentraties hoger dan de bovenwindse concentratie zijn vetgedrukt

Eerste auteur (jaar)	Land	Omschrijving bedrijf	Meetperiode	Tijdsduur bemonst.	Stoffractie	Gem. concentratie Bovenwinds [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	Gem. concentraties Stal/benedenwinds [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
Pluimvee							
Schmidt (1996)	D	Twee leghennenbedrijven en twee vleeskuikenbedrijven	Jaarrond	30 min	Totaalstof	n.g.	In de stal: ca. 80–2750 Op 3 m: ca. 30–1200 Op 10 m: <400 Op 50 en 100 m: <4
Seedorf (1998c)	D	Vleeseendenstal, nokvent., 2146 dieren	Eenmalige meting	18,5 uur	Totaalstof	114	In de stal: 1900 Op 25 m: 123
Visser (2006)	GA, USA	Bedrijf met 7 vleeskuikenstallen, tunnel ventilatie, 193.900 dieren, leeftijd: 24–35 dagen	18–29 Aug '05	24–48 uur	PM2,5	24,0 ^c	In de stal: 58,6 ** Op 30 m: 24,1 ^{n.s.} Op 91 m: 24,9 ^{n.s.} Op 152 m: 23,1 ^{n.s.}
Worley (2013)	GA, USA	Bedrijf met 3 vleeskuikenstallen, tunnel ventilatie, 94.000 dieren, leeftijd: 29–56 dagen	18 Jul–12 aug '07	22 uur	PM2,5	Ca. 31 ^c	In de stal: 71,7 * Op 30 m: 45,1 * Op 61 m: 36,3 ^{n.s.} Op 91 m: ca. 34 ^{n.s.} Op 152 m: ca. 32 ^{n.s.}
Li (2010)	NC, USA	Bedrijf met 4 vleeskuikenstallen, tunnel ventilatie, 86.000 dieren, leeftijd: 42–49 dagen	Jan '08	4 uur	Totaalstof	290 ^c	Op 4,6 m: 3848 Op 31–61 m: 978
Li (2012)	USA	Bedrijf met 9 leghennenstallen	Okt '08–jan '11	24 uur	PM2,5	10,7 ^c 10,4 ^c	Op 91 m: +0,61 * Op 153 m: +0,38 *
					PM10	22,3 ^c 18,0 ^c	Op 91 m: +4,98 * Op 153 m: +3,40 *
Varkens							
Hartung (1998)	D	Varkensstal met 1000 dieren, volledig roostervloer, brijvoeding	-	24 uur	Totaalstof	37	In de stal: 600 Op 50 m: 80 Op 115 m: 37
Martin (2008)	IA, USA	Bedrijf met 3 stallen ('deep pit'), nat. Gevent., 3750 dieren	3–8 Sep '05	23 uur	PM10	37,9 ^c	Tussen stallen: +25,1 Op 39 m: +15,8 Op 15–50 m: gem. +5,8
Thorne (2009)	IA, USA	Bedrijf met 3 open stallen met strooiselvloer, 600 dieren	15 maanden	4 uur	Inhaleerb.	ca. 50 ^a	In de stal: ca. 1050 ** Op 30 m: ca. 500 ** Op 160 m: ca. 300 ^{ns}
		Bedrijf met 1 stal ('deep pit' type), 1200 dieren	15 maanden	4 uur	Inhaleerb.	ca. 100 ^a	In de stal: ca. 1100 ** Op 30 m: ca. 120 ^{ns} Op 160 m: ca. 130 ^{ns}

^a Meetkundig (geometrisch) gemiddelde, ^b mediaan, ^c rekenkundig gemiddelde

^{n.s.} niet significant ($P>0,05$), * significant ($P<0,05$) en ** sterk significant ($P<0,01$) verschillend van de concentratie bovenwinds

n.g.: niet gemeten

Tabel 12 Overzicht van studies naar endotoxineconcentraties bovenwinds en benedenwinds van veehouderijen. Benedenwindse concentraties hoger dan de bovenwindse zijn vetgedrukt

Eerste auteur (jaar)	Land	Omschrijving bedrijf	Meet-periode	Tijdsduur bemonst.	Stof-fractie	Gem. concentratie bovenwinds [EU/m ³]	Gem. concentraties Stal/benedenwinds [EU/m ³]
Pluimvee							
Heederik (2011)	NL	Leghennen, volièrehuisv., 335.000 dieren	Sep-okt '10	6 uur	Inh. stof	0,8 (range: 0,4–1,6)	In de stal: 1400 (800–2860) Op 30 m: 45,5 (40,1–50,6) Op 160 m: 4,7 (3,2–6,4) Op 250 m: 2,2 (1,5–3,0)
					PM10	0,8 (range: 0,5–1,2)	In de stal: 640 (360–2080) Op 30 m: 2,3 (0,7–3,5) Op 160 m: 4,9 (4,1–6,9) Op 250 m: 3,9 (2,3–8,5)
Seedorf (1998c) #	D	Vleeseendenstal, nokventilatie, 2146 dieren	Eenmalige meting	18,5 uur	Totaal stof	3,7 #	In de stal: 71.324 Op 25 m: 1,6
Varkens							
Heederik (2011)	NL	Varkensbedrijf met 5200 dieren en ionisatie	Jul–sep '10	6 uur	Inh. stof	0,9 (range: 0,7–1,0)	In de stal: 570 (400–830) Op 30 m: 4,7 (4,2–5,7) Op 160 m: 1,2 (0,8–1,6) Op 250 m: 0,8 (0,7–1,1)
					PM10	0,4 (range: 0,3–1,2)	In de stal: 525 (285–690) Op 30 m: 2,3 (0,7–3,5) Op 160 m: 1,0 (0,5–1,7) Op 250 m: 0,9 (0,6–1,4)
	NL	Varkensbedrijf met 500 dieren	Sep-okt '10	6 uur	Inh. stof	0,6 (range: 0,6–0,7)	In de stal: - Op 30 m: 3,7 (2,6–5,7) Op 160 m: 1,0 (0,7–1,9) Op 250 m: 0,6 (0,4–1,0)
					PM10	0,6 (range: 0,3–1,5)	In de stal: - Op 30 m: 4,4 (4,1–5,0) Op 160 m: 1,7 (0,3–22,0) Op 250 m: 0,9 (0,5–2,8)
Hartung (1998) #	D	Varkensstal met 1000 dieren, volledig roostervloer, brijvoeding	-	24 uur	Totaal stof	90 #	In de stal: 1600 Op 50 m: 600 Op 115 m: 150
Ko (2010)	NC, USA	17 Varkens-bedrijven (40–9792 dieren), 15 met mestbeh. inst.	2 jaren	4 uur	Totaal stof	10,3 ^a 22,8 ^c (range: 0,5–183)	Op 2 m: 109^a 385^c Op 150 m: 15,5^a 39,7^{c*}
Thorne (2009)	IA, USA	Bedrijf met 3 open stallen met strooiselvloer, 600 dieren	15 maanden	4 uur	Inh. stof	ca. 3 ^a (range: 1–6)	In stal: ca. 1200 ** Op 30 m: ca. 110 ** Op 160 m: ca. 25 **
		Bedrijf met 1 stal ('deep pit' type), 1200 dieren	15 maanden	4 uur	Inh. stof	ca. 5 ^a (range: 2–10)	In stal: ca. 1200 ** Op 30 m: ca. 45 * Op 160 m: ca. 15^{ns}
Melkvee							
Dungan (2011)	ID, USA	Bedrijf met 6 stallen, totaal 10.000 dieren	Okt '09–sep '10	3 uur	Inh. stof	ca. 5 ^c (range: 0,4–33)	Op 50 m: 426 * Op 200 m: 56 *
Nertsen							
Heederik (2011)	NL	Nertsenbedrijf met 6000 dieren	Sep-okt '10	6 uur	Inh. stof	3,1 (range: 2,9–3,4)	In de stal: 5,4 (4,4–6,6) Op 30 m: 1,7 (1,6–1,7) Op 160 m: 1,2 (0,8–1,8) Op 250 m: 0,9 (0,7–1,1)
					PM10	1,6 (range: 1,0–2,6)	In de stal: 1,9 (1,7–2,0) Op 30 m: 1,1 (0,9–1,2) Op 160 m: 0,7 (0,6–0,9) Op 250 m: 0,7 (0,4–1,5)

^a Meetkundig (geometrisch) gemiddelde, ^b mediaan, ^c rekenkundig gemiddelde

^{ns.} niet significant ($P>0,05$), * significant ($P<0,05$), ** sterk significant ($P<0,01$) verschillend van concentratie bovenwinds

Concentraties gepubliceerd in ng/m³, omgerekend volgens: 1 ng/m³ = 10 EU/m³

Emissiepluimen en afstanden

In de studie van (Heederik et al., 2011) bij vier Nederlandse veehouderijbedrijven werden de hoogste endotoxineconcentraties gemeten op het meetpunt 30 meter benedenwinds het pluimveebedrijf; deze hoogste concentraties lagen rond 50 EU/m³. Bij alle metingen droegen de stallen bij aan hogere benedenwindse concentraties van endotoxinen tot een afstand van ca. 160 meter, waarbinnen concentraties exponentieel lijken af te nemen. Dit algemene beeld wordt ook in de overige studies in Tabellen 11 en 12 gevonden.

Bedacht moet worden dat de meeste studies in Tabellen 11 en 12 zijn uitgevoerd in het buitenland, bij stalsystemen, bedrijfsgroottes, bedrijfsmanagement en meteorologische omstandigheden die sterk kunnen afwijken van de situatie in Nederland. Een aantal Amerikaanse studies naar concentratiegradiënten van endotoxinen benedenwinds van zogenaamde 'feedlots' of 'feed yards' zijn om deze reden niet opgenomen in de tabellen (Dungan and Leytem, 2009, 2011; Dungan et al., 2010). Bij dit houderijsysteem worden duizenden dieren in de open lucht gehouden bij een warm en droog klimaat.

Voor het IVG-onderzoek (Heederik et al., 2011) geldt dat het aantal bedrijven (4) en het aantal metingen per bedrijf (2–5) beperkt is geweest; gemiddelde blootstellingsniveaus of generieke afstandsgrenzen tussen stalgebouwen en omwonenden kunnen op grond van deze studie niet worden gegeven. Dergelijke cijfers variëren vermoedelijk sterk tussen bedrijven (t.g.v. bedrijfsomvang, ventilatiesysteem, verticale of horizontale uittreerichting, uittreesnelheid, etcetera) en binnen bedrijven (t.g.v. seizoensvariatie of de leeftijd van de dieren).

Meettechnische bedenkingen bij gradiëntmetingen

Voor alle studies geldt dat het accuraat meten van concentraties in een emissiepluim een meettechnische uitdaging is. Wanneer te hoog of te laag wordt gemeten kan de emissiepluim in verticale zin worden gemist. Doorgaans worden metingen op de hoogte van inhalatie van de mens (1,5 m) uitgevoerd. Hetzelfde geldt in horizontale zin wanneer de windrichting instabiel is tijdens een meting. Het risico op het missen van een emissiepluim neemt toe met de afstand van het meetpunt tot het emissiepunt van de stal. Dit is deels op te vangen door metingen met een langere monsternameduur toe te passen. Indien dit niet mogelijk is, zal vaker herhaald over de tijd bemonsterd moeten worden. Deze aspecten zullen, wanneer deze optreden, telkens leiden tot een onderschatting van werkelijke concentraties in de emissiepluim en tot een onderschatting van de afstand tot waar verhoogde concentraties worden gemeten. Hiermee dient rekening te worden gehouden in de beoordeling van de literatuur. Seedorf et al. (1998c) voeren dit ook aan als verklaring voor het niet vinden van verhoogde concentraties op 25 m afstand van een vleeseen denstal (Tabellen 11 en 12).

Emissiepluimen en achtergrondconcentraties

Hoewel lokale emissiepluimen van individuele bedrijven op enige afstand afnemen tot achtergrondniveaus, moet tot slot bedacht worden dat meerdere veehouderijbedrijven binnen een gebied tezamen tot een regionale verhoging van achtergrondconcentraties kunnen leiden. Ten aanzien van endotoxinen bestaan hiervoor aanwijzingen (Hartung and Seedorf, 1999; Schulze et al., 2006). Ten aanzien van PM10 zijn dergelijke regionale concentratieverhogingen geschat op enkele microgrammen per m³ (Velders et al., 2008). Een verhoogde achtergrondconcentratie is ook relevant voor omwonenden buiten de directe emissiepluim.

5.3 De verspreiding van endotoxine via lucht en modellering van de omgevingsbelasting

In stallen gevormde endotoxinen worden als onderdeel van stofdeeltjes met de ventilatielucht in de omgeving verspreid. Als gevolg van deze verspreiding worden omliggende omgevingspunten belast. Het proces van verspreiding en de bijbehorende omgevingsbelasting kenmerkt zich door een grote mate van variatie in tijd en ruimte.

In dit proces kunnen de volgende factoren worden onderscheiden die bijdragen aan deze variatie.

- Stalemissie endotoxines: niveau (stalgrootte, aantal en leeftijd dieren, stalrichting) en spreiding als gevolg van bedrijfsfactoren (voer- en ventilatiemanagement, dieractiviteit, mestmanagement).
- Uitwerp: positionering van ventilatieopeningen (nok - of lengteventilatie), ventilatiesnelheid en richting, temperatuur.
- Weersomstandigheden: windrichting, windsnelheid, temperatuur en andere weersfactoren.
- Omgevingseigenschappen: stalgebouw en omliggende gebouwen, terreineigenschappen in de omgeving die turbulentie en opmenging beïnvloeden.

Deze factoren dragen er toe bij dat endotoxineconcentraties op een gegeven omgevingspunt zich zullen kenmerken door een grote mate van variabiliteit. Uitspraken over de belasting van een omgevingspunt zullen daarom altijd in relatie tot deze variabiliteit moeten worden uitgedrukt. Een gebruikelijke benadering daarbij is de belasting in de vorm van percentielwaarden uit te drukken. Voor de belasting van PM10 wordt b.v. gebruik gemaakt van het 90-percentiel, dat is de waarde waarvoor geldt dat gedurende 90% van de tijd (hier uitgedrukt in aantal dagen over een jaar) de concentraties lager dan of gelijk zijn aan deze waarde, en daarmee gedurende de resterende 10% van de tijd hoger. Het ter plekke bepalen van een belasting op een omgevingspunt via metingen vereist een groot aantal herhalingen in de tijd verdeeld over de seizoenen in een jaar. Voor individuele bedrijfsbeoordelingen in de veehouderij is een dergelijke benadering kostbaar en tijdrovend. In de huidige vergunningenpraktijk wordt daarom voor de belasting van PM10 en geurhinder, waarvoor een gelijksoortige variabiliteit qua omgevingsbelasting geldt, gebruik gemaakt van gestandaardiseerde verspreidingsmodellen. Hierin kunnen de specifieke bedrijfsfactoren en de lokale invloedsfactoren worden opgenomen en kan de omgevingsbelasting in de vorm van percentielwaarden voor omliggende punten worden berekend.

Voor het modelleren van luchtkwaliteit in regelingen wordt in Nederland gebruik gemaakt van het Nieuw Nationaal Model (NNM). Het NNM is ontwikkeld in de jaren negentig als standaardmodel voor het doorrekenen van luchtkwaliteit in Nederland. Het kan opgevat worden als een consensus model. Het is oorspronkelijk ontwikkeld voor industriële bronnen (schoorstenen) en vervolgens richting andere brontypes toepasbaar gemaakt. In 2002 is een verbeterde versie van het NNM gepubliceerd met onder meer een toelichting van de modelonzekerheid in het zogenaamde Paarse Boekje, zie hiervoor ook de toelichting voor gebruik op de informatie-site van InfoMil (InfoMil, 2014). De voor PM10 (ISL3a) en geurhinder (V-Stacks) ontwikkelde vergunningsmodellen zijn vereenvoudigde varianten van het NNM die geen uitgebreide modelkennis vereisen en door vergunningverleners en adviseurs kunnen worden gebruikt. In beide modellen wordt de verspreiding berekend door gebruik te maken van emissiefactoren, die beschikbaar zijn voor de verschillende diercategorieën en huisvestingstypen en die de emissie per dier uitdrukken. In deze modellen kunnen de eigenschappen van de emissiepunten van een bedrijf, de voor de betreffende regio representatieve meteorologie, en de eigenschappen van de omgeving (zogenoemde terreinruwheid) worden in gevoerd.

In een tweetal recente studies (Hofschreuder and Ogink, 2013; Verhees and Erbrink, 2014) is nader ingegaan op de uitgangspunten die worden gebruikt in de modellering van geur- en stofverspreiding door V-Stacks en ISL3a. Een gemeenschappelijk uitgangspunt in deze modellen is dat de stalemissie als een constante wordt ingevoerd. In beide studies worden de effecten van dit uitgangspunt onderzocht door de effecten van variabiliteit in stalemissie voor een aantal voorbeeldbedrijven door te rekenen. De studies laten zien dat bronvariabiliteit met name bij de 98-percentiele van geur (V-Stacks) in sommige bedrijfssituaties een rol kan spelen.

In de studie van Verhees en Erbrink wordt tevens ingegaan op de wijze waarop uitstroming van stallucht wordt gemodelleerd. NNM-modellen zijn ontwikkeld voor verticale uitstroombokers/pijpen. Een belangrijk deel van met name de pluimveestallen in Nederland zijn echter uitgerust met lengteventilatie en hebben een horizontale uitstroming van de stallucht. Door de uitgestroomde lucht in V-Stacks en ISL3a als een oppervlaktebron met een lage verticale uitstroomsnelheid (0,4 m/s) te beschouwen wordt via een omweg de pluimontwikkeling berekend. In de betreffende studie van Verhees en Erbrink worden vraagtekens geplaatst bij deze aanpak en wordt aanbevolen de juistheid van deze modellering aan nader onderzoek te onderwerpen.

5.4 Samenvattende conclusies hoofdstuk 5

Er zijn enkele studies uitgevoerd naar endotoxineconcentraties in de buitenlucht. Op grond daarvan kan worden geconcludeerd dat achtergrondconcentraties in het algemeen laag zijn, beneden 1 –2 EU/m³. Enkele buitenlandse studies en een Nederlandse studie suggereren dat endotoxineconcentraties in veehouderijgebieden hoger kunnen zijn t.o.v. stedelijke referentiegebieden. In de literatuur worden in het algemeen de hoogste buitenluchtconcentraties gevonden tussen circa mei en september. Benedenwinds van veehoude rijbedrijven zijn 'emissiepluimen' van stofdeeltjes en endotoxinen meetbaar. Een dergelijke pluim ontspringt grotendeels in de emissieopening(en) van het stalgebouw en strekt zich benedenwinds uit. Concentraties in de pluim nemen af met de afstand tot het stalgebouw doordat deeltjes sedimenteren, maar vooral door verdunning met relatief schone buitenlucht. Meerdere veehouderijbedrijven binnen een gebied kunnen tezamen tot een regionale verhoging van achtergrondconcentraties leiden die zich uitstrekt buiten directe emissiepluimen van bedrijven. De verspreiding van stofdeeltjes en endotoxinen uit stallen kenmerkt zich door een grote mate van variatie in tijd en ruimte, waarbij emissieniveaus, uitworpkarakteristieken, weersomstandigheden en omgevingseigenschappen een belangrijke rol spelen. Deze aspecten worden in verspreidingsmodellen t.b.v. vergunningsverlening (V-Stacks voor geur en ISL3a voor fijn stof) gebruikt om de belasting op rond het veehouderijbedrijf liggende punten te berekenen.

6 Ontwerpaspecten van een toetsingskader voor endotoxine-emissies

In dit hoofdstuk wordt besproken op welke wijze een toetsingskader voor endotoxine-emissie kan worden ingericht. Omdat voor andere emissiecomponenten (fijn stof, geur en ammoniak) reeds toetsingskaders bestaan ligt het voor de hand bij deze uitwerking na te gaan of en zo ja hoe daarop kan worden aangesloten. In dit hoofdstuk worden daarom eerst de bestaande toetsingskaders voor veehouderij samengevat. Buitenlandse toetsingskaders die van belang kunnen zijn voor de ontwikkeling van het endotoxine-toetsingskader worden toegelicht gevolgd door een overzicht van bestaande toetsingskaders voor geur, ammoniak en fijn stof in Nederland en de daarbij gebruikte verspreidingsmodellen. Vervolgens wordt in aansluiting hierop besproken welke benaderingen denkbaar zijn voor ontwikkeling van een endotoxine-toetsingskader. De voorkeursrichting wordt nader uitgewerkt op basis van criteria als effectiviteit, aansluiting op bestaande toetsingskaders, en bestaande (deze studie) en nog te ontwikkelen kennis voor onderbouwing en praktijkvalidatie. Tenslotte wordt voor de voorgestelde aanpak stapsgewijs de belangrijkste inhoudelijke aandachtspunten besproken en de beleidsmatig te maken afwegingen geschetst.

6.1 Bestaande toetsingskaders voor endotoxinen in het buitenland

In het buitenland bestaan geen formele toetsingskaders ten aanzien van emissies van endotoxine uit stallen.

In het Verenigd Koninkrijk is echter wel regelgeving over emissies van bioaerosolen uit composteerinrichtingen. Hoewel endotoxinen niet het directe aangrijpingspunt zijn in deze regelgeving, heeft deze regelgeving wel indirecte invloed op de endotoxine-emissies. Deze regelgeving is ingesteld nadat de mogelijkheid van volksgezondheidsrisico's waren vastgesteld op basis van een literatuuronderzoek (Swan et al., 2003). De regelgeving in het VK schrijft voor dat een risicobeoordeling noodzakelijk is voor een composteringsinstallatie wanneer zich een gevoelige receptor bevindt binnen 250 m van de faciliteit (UK-Environment-Agency, 2001). De risicobeoordeling omvat monitoring van kweekbare micro-organismen (meer specifiek *Aspergillus fumigatus*) benedenwinds van composteerinstallaties volgens een gestandaardiseerd protocol.

In Duitsland bestaat een richtlijn (VDI 5250 Part 1) welke zich op dit moment in de fase van een herzien concept bevindt. Deze richtlijn voorziet erin dat een bedrijf voor wat betreft de bioaerosol bijdrage aan de omgevingsconcentraties de 95-percentielwaarde van de achtergrondconcentratie niet dient te overschrijden. Dit geldt wanneer er zich binnen een bepaalde afstand gevoelige receptoren bevinden. De deelstaat Noordrijn-Westfalen heeft eigen beleid ten aanzien van dierhouderijen, weergegeven in 'Immisionschutzrechtliche Anforderung an Tierhaltungsanlagen, Februar 2013'. In dit beleid wordt emissie van bioaerosolen in enige mate gereguleerd. Deze regeling schrijft voor dat indien zich binnen een afstand van 350 meter (voor varkenshouderij) of 500 meter (voor pluimveehouderij) een woning bevindt, een risicoschatting gemaakt dient te worden. Deze risicoschatting vindt plaats op basis van verspreidingsmodellering, welke getoetst wordt aan de door deskundigen (via een "Fachgespräch") vastgestelde preliminaire richtwaarden ten aanzien van concentraties micro-organismen ter bescherming van de volksgezondheid. De jaargemiddelde concentraties van *Staphylococcus aureus*, Staphylococci, Enterococci, en Enterobacteriën dient de waarde van 240 KVE/m³ (kolonievormende eenheden) niet te overschrijden. Een aantal van deze

bacteriën zullen een bijdrage aan de endotoxineconcentratie in de omgeving leveren en regulering van de concentratie bacteriën in de lucht zal ook tot beperking van het endotoxineniveau leiden. Opgemerkt moet worden dat deze grenswaarden preliminair zijn en nog ter discussie staan. Indien deze waarden overschreden worden dient een nader onderzoek uitgevoerd te worden. Naast richtlijnen ten aanzien van bioaerosolen wordt ook regelgeving ingesteld ten aanzien van de toepassing van de stand der techniek voor luchtwassers voor varkenshouderijen. Dit heeft als doel om emissies van fijn stof, ammoniak en geur te verminderen. Voor pluimvee wordt de stand der techniek nog niet voldoende geacht om luchtwassers hierin op te nemen.

6.2 Bestaande toetsingskaders voor geur, fijn stof en ammoniak in Nederland

Toetsingskaders worden in Nederland toegepast bij verlening van een omgevingsvergunning aan veehouderijbedrijven om ongewenste overbelasting (op het gebied van milieubelasting en geur) van de omgeving door emissies uit die bedrijven te vermijden. Dit rapport beperkt zich hier tot de beschrijving van de basissystematiek van de bestaande toetsingskaders voor geur, fijn stof en ammoniak voor zover relevant voor het te ontwikkelen endotoxine-instrument. De uiteenlopende wijze waarop deze kaders in wet- en regelgeving zijn verankerd wordt eveneens slechts op hoofdlijnen weergegeven. Gedetailleerde toelichtingen zijn onder meer te vinden op de website van InfoMil en de website van het DR-loket⁹.

6.2.1 Geur

Sinds 2006 wordt het toetsingskader voor geurhinder door dierhuisvesting geregeld in de Wet geurhinder en veehouderij (Wgv) en de bijbehorende Regeling geurhinder en veehouderij (Rgv). Het hierbij ingezette beoordelingsinstrument is gebaseerd op het vaststellen van de geurbelasting van omliggende bewoning van een veehouderijbedrijf in de vorm van 98-percentielwaarden. Uitzondering hierop vormen de diercategorieën zonder geuremissiefactor, zoals rundveebedrijven, waarvoor vaste minimumafstanden tot bewoning worden gehanteerd van 100 meter binnen en 50 meter buiten de bebouwde kom. Voor de diercategorieën met geuremissiefactor wordt met een verspreidingsmodel voor omliggende punten berekend hoe de geurconcentratie door de tijd varieert als gevolg van verspreidingsvariatie gedurende een aantal meteorologische jaren. Hieruit volgt een frequentieverdeling met geurconcentraties waaruit percentielwaarden kunnen worden berekend voor een belast punt. Het 98-percentiel staat voor de waarde waarvoor gedurende 98% van de tijd de uurgemiddelde geurconcentratie kleiner en voor 2% van de uren in het jaar hoger is dan deze waarde. Deze 98-percentielwaarden worden per bedrijf berekend met een landelijk voorgeschreven verspreidingsmodel (V-Stacks) dat gebruik maakt van geuremissiefactoren (emissieniveaus, uitgedrukt in zogenaamde geureenheden (OU_E) per seconde per dierplaats) die per diercategorie en daarbinnen per subcategorie zijn vastgesteld. V-Stacks is een op het Nieuw Nationaal Model (NNM) gebaseerd pluimmodel dat met een vereenvoudigd invoerstelsel voor emissiekentallen van een bedrijf geschikt is voor gebruik door vergunningverleners en adviseurs. De geuremissiefactoren zijn gebaseerd op emissieonderzoek op praktijkbedrijven volgens voorgeschreven meetprotocollen (Mol and Ogink, 2002; Ogink and Lens, 2001) en deels door afleidingen tussen categorieën (Ogink, 2010).

6.2.2 Fijn stof

Voor fijnstofemissie (PM₁₀) in de veehouderij bestaat sinds 2010 een toetsingskader waarbij voor elk veehouderijbedrijf de fijnstofbelasting op de omgeving wordt beoordeeld. De toepassing van dit

⁹ <http://www.infomil.nl>

<https://www.drloket.nl/onderwerpen/milieu/dossiers/dossier/natuurbeschermingswet>

toetsingskader door het bevoegd gezag bij vergunningverlening staat beschreven in de 'Handreiking fijn stof en veehouderijen' uit 2010 (InfoMil, 2010). Ook hier bestaat het toetsingskader uit een stelsel van emissiefactoren, een verspreidingsmodel en grenswaarden voor de belasting van omliggende bewoning. Het Ministerie van Infrastructuur en Milieu onderhoudt een tabel met voorgeschreven fijnstof emissiefactoren voor huisvestingssystemen voor uiteenlopende diercategorieën. Deze emissiefactoren zijn gebaseerd op een omvangrijk meetprogramma dat tussen 2007 en 2011 is uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van Economische Zaken volgens een voorgeschreven meetprotocol (Hofschreuder et al., 2008; Ogink et al., 2011a). In dit meetprogramma zijn fijnstofemissies bepaald in 40 praktijkstallen bestaande uit 14 verschillende huisvestingssystemen voor pluimvee, varkens, rundvee en nertsen. Van dit meetprogramma is een reeks van 12 meetrapporten verschenen onder de titelserie 'fijnstofemissies uit stallen' (Mosquera et al., 2011a; Mosquera et al., 2010b; Mosquera et al., 2011b; Mosquera et al., 2010c; Mosquera et al., 2010d; Mosquera et al., 2009a; Mosquera et al., 2009b; Mosquera et al., 2009c; Winkel et al., 2011a; Winkel et al., 2009a; Winkel et al., 2010a; Winkel et al., 2009b). Ook hier hebben de emissiefactoren een generiek karakter die over het jaar gemiddelde emissies weergeven in de onderscheiden diercategorieën. Het toegepaste verspreidingsmodel ISL3a (Implementatie Standaard -rekenmethode Luchtkwaliteit 3a) is een op het NNM gebaseerd vereenvoudigd pluimmodel dat qua invoersystematiek verwant is aan het hiervoor besproken V-Stacks model voor geur. Net als voor geur dienen hier voor een bedrijf de dieraantallen per diercategorie/huisvestingssysteem, bijbehorende emissiefactoren en emissiepunten te worden ingevoerd. Het model berekent de belasting op omliggende bewoning in de vorm van PM10-concentratieniveaus. Een belangrijk onderscheid met geur is dat bij de fijnstofverspreiding de effecten van stofsedimentatie moeten worden meeberekend. De grenswaarden waaraan de berekende belasting wordt getoetst zijn voorgeschreven in EU-richtlijn 2008/50/EG (EU, 2008). De daggemiddelde PM10-concentratie van 50 µg/m³ 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 40µg/m³ niet overschrijden.

6.2.3 Ammoniak

Ten behoeve van het vaststellen van ammoniakdepositie door de ammoniakuitstoot van veehouderijen zijn er ook verspreidings- en depositiemodellen voor ammoniak ontwikkeld voor vergunningverlening (in het kader van Natura 2000-beleid). Enige jaren geleden is hiervoor het op het NNM gebaseerde model AAgro-Stacks ontwikkeld dat gelieerd is aan V-Stacks voor geur en ISL3a voor fijn stof en waarmee de ammoniakdepositie van bedrijven kan worden doorgerekend. Dit model wordt nog wel toegepast, maar zal op termijn vervangen worden door een nieuw depositiemodel (Aerius) met meerdere functies. Aerius is momenteel in ontwikkeling. Met Aerius kan op verschillende gebiedsschalen de ammoniakdepositie door veehouderij en andere bronnen (verkeer, industrie) worden berekend. Specifiek voor vergunningverlening op bedrijfsniveau voor Natura 2000 is Aerius Calculator in ontwikkeling. Hierbij wordt gebruik gemaakt van het door RIVM ontwikkelde OPS-model (Operationele Prioritaire Stoffen model). In Aerius wordt eveneens gebruik gemaakt van generieke emissiefactoren voor combinaties van diercategorieën en huisvestingssystemen die door metingen op praktijkbedrijven zijn vastgesteld. De grenswaarden zijn gedefinieerd als maximaal aanvaardbare depositieniveaus (uitgedrukt in mol N/ha per jaar) in een betreffend gebied.

6.3 Vormgeving van een toetsingskader voor endotoxine

Een toetsingskader voor het begrenzen van de belastende effecten van een uitgestoten stof op de omgeving van een bron kan op diverse manieren vorm worden gegeven.

In zijn meest eenvoudige vorm zou gewerkt kunnen worden met een minimaal aan te houden afstand tussen bron (stal) en het dichtst bijliggende bewoonde punt in de stalomgeving. In het geval van een relatief constante bronsterkte en bij gelijkmatige verspreidingscondities van de stof zou deze aanpak goed kunnen voldoen. Op basis van deze inventarisatie is gebleken dat endotoxineniveaus verschillen tussen typen veehouderijbedrijven en naar alle waarschijnlijkheid ook met de bedrijfsomvang qua

aantallen dieren. Daarmee wordt een grote variatie in de uitstoot per dier tussen diercategorieën en huisvestingssystemen verwacht. Toepassing van een ruime vaste afstand vanuit een 'worst-case' bronbenadering zal een groot beslag leggen op landelijk gebied voor óf enkel bewoning óf enkel dierlijke productie en zal niet tot een doelmatige benadering leiden. Een ruim gedimensioneerde onzekerheidsmarge staat hier al snel op gespannen voet met economische en maatschappelijke belangen, met name in gebieden waarin een grote verwevenheid van bewoning en dierproductie voorkomt. Rekening houden met de bronsterkte bij de toetsing van de omgevingsbelasting ligt daarom voor de hand.

Het vroegere toetsingskader voor geurhinder door veehouderij was gebaseerd op afstandsgrafieken waarin de bronsterkte van een bedrijf (uitgedrukt in zogenoemde mestvarkeneenheden als maat voor geuremissie) werd uitgezet tegen minimaal aan te houden afstanden tussen stal en bewoning. Daarbij werden bovendien verschillende lijnen gehanteerd voor gebieden met meer en minder bescherming. Door de bronsterkte van verschillende diercategorieën in verhouding tot mestvarkens uit te drukken ontstond een eenheid voor geuremissie. Het gebruik van afstandengrafiek kenmerkt zich door relatieve eenvoud in de praktijktoepassing maar heeft net als het hanteren van een vaste afstand het nadeel dat het een sterke vereenvoudiging van de belasting betreft. Wat ontbreekt is de variabiliteit in belasting op de omgeving als gevolg van de wijze waarop ventilatielucht wordt uitgestoten (hoogte uitworp punt, luchtsnelheid en richting, temperatuur) en de variabiliteit qua verspreiding in de omgeving door verschillende terreineigenschappen en de meteorologische omstandigheden in een regio (zo bestaan er aanzienlijke verschillen in windprofielen tussen West en Oost-Nederland). Voldoende bescherming bieden met een vereenvoudigd instrument als een afstandengrafiek leidt ook hier al snel tot een forse gebiedsimpact doordat rekening moet worden gehouden met grote instrumentele (on)zekerheidsmarges.

De snelle toename in rekenkracht en digitalisering van gegevensbestanden maakten het enige jaren geleden mogelijk gebruik te gaan maken van toegesneden verspreidingsmodellen in de vergunningverlening. Deze ontwikkeling heeft geleid tot de introductie van de eerder besproken modellen V-Stacks en ISL3a. Beide zijn vereenvoudigde varianten van het NNM. Door deze aanpak is het mogelijk de belasting op de omgeving met in acht name van specifieke bron-, terrein- en meteorologische omstandigheden door te rekenen. De belasting kan met deze modellen bovendien in de vorm van percentielwaarden over een groot aantal meteorologische jaren worden doorgerekend waarmee een flexibele maat voor belasting wordt aangereikt.

Het ligt voor de hand de aanpak binnen de toetsingskaders voor geur en fijn stof in de veehouderij als uitgangspunt voor de ontwikkeling van het endotoxine-toetsingskader te nemen. Niet alleen wordt hiermee de instrumentele nauwkeurigheid door het gebruik van lokale verspreidingsfactoren ondersteund, maar kan bovendien aangesloten worden op een bestaande infrastructuur in de vergunnings- en beoordelingspraktijk en de hierin opgedane ervaringen.

6.4 Uitwerking toetsingskader: inhoudelijke aandachtspunten en keuzes

Een voor de hand liggende vraag is of de huidige toetsingskaders voor geur en fijn stof niet reeds in voldoende mate bescherming bieden tegen te hoge endotoxine-niveaus. Met de huidige kennis kunnen hierover geen gedetailleerde uitspraken worden gedaan. Oriënterende berekeningen (niet opgenomen in deze rapportage) met aangenomen verhoudingen tussen endotoxine en PM10-concentraties in stallucht suggereren echter wel dat met name voor pluimveecategorieën de PM10-regulering waarschijnlijk niet afdoende is om onder de grenswaarde voor endotoxine te blijven. Te kiezen percentielwaardes voor de endotoxine-norm en middelingstijden spelen hierbij overigens een belangrijke rol. Op basis van de huidige informatie is het naar ons inzicht zinvol het endotoxine-instrument verder te ontwikkelen.

Voor de uitwerking van een toetsingskader voor endotoxinen gebaseerd op een op verspreidingsmodellering gerichte aanpak worden in de bespreking vier hoofdcomponenten onderscheiden.

1. Emissiefactoren: vaststelling van de bronsterkte
2. Verspreidingsmodel: schatting van de verspreiding naar het toetsingspunt
3. Grenswaarden: definitie kritieke niveau voor de omgevingsbelasting
4. Validatie van het toetsingsinstrument

6.4.1 Vaststelling endotoxine-emissie

Voor deze aanpak is behoefte aan een representatieve inschatting van de uitstoot van endotoxinen per dier en per tijdseenheid voor een gegeven huisvestingsstelsel. Uit de literatuur blijkt dat gemeten concentraties en emissies in stallen een grote variatie laten zien en tevens dat deze aanzienlijk kunnen verschillen tussen diercategorieën en waarschijnlijk ook tussen huisvestingsstelsels (par. 3.4 en 4.1). Informatie over het endotoxinegehalte in stof is zeer beperkt beschikbaar. Er lijkt sprake van een aanzienlijke variatie in endotoxinegehalten, die in het algemeen voor de stofdeeltjes met diameters boven 2–3 µm aanzienlijk hoger liggen dan voor de kleinere deeltjes. Ook bestaan er aanzienlijke verschillen in het endotoxinegehalte in het stof tussen diercategorieën (Tabellen 2 en 3). In het algemeen kan worden gesteld dat de variatie in endotoxineconcentraties en de variatie in het endotoxinegehalte van het stof groter is dan de variatie die voor het stof zelf wordt waargenomen. Een rechtstreekse koppeling aan PM10-emissiefactoren middels een vaste omrekenfactor zou rekening moeten houden met deze variabiliteit. Bovendien dient bij een dergelijke koppeling ook de endotoxine-uitstoot in de grotere stoffracties te worden beschouwd. Een ander aspect dat bij de beoordeling van literatuurgegevens moet worden meegewogen is dat het voor een belangrijk deel onderzoek betreft aan huisvestingsstelsels die niet overeenkomen met voor de Nederlandse praktijk gangbare stelsels en bedrijfsvoering. Of het betreft onderzoek waarin geen onderscheid gemaakt is in huisvestingsstelsels. Er zijn daarom momenteel onvoldoende gegevens beschikbaar als basis voor endotoxine-emissiefactoren voor de afzonderlijke diercategorieën.

Representatieve emissiefactoren kunnen enkel worden vastgesteld door praktijkemissiemetingen gebaseerd op gestandaardiseerde meetmethoden en een bemonsteringsstrategieën waarin binnen- en tussenbedrijfsvariatie wordt meegenomen. Hiervoor is de uitwerking van een meetprotocol noodzakelijk. Daarbij kan gebruik gemaakt worden en deels aangesloten worden bij de huidige meetprotocollen voor emissiecomponenten in de veehouderij (Ogink et al., 2011a; Ogink et al., 2011b). In de uitwerking dient daarbij aandacht te worden besteed aan:

- bemonsteringsstrategie afgestemd op alle belangrijke variatieniveaus;
- nadere precisering van de monstername, de extractiemethode en de LAL-bepalingsmethode voor de endotoxineconcentratie;
- geschikte concentratie-middelingstijden die aansluiten bij de formulering van de gedefinieerde grenswaarden;
- onderscheid naar endotoxinegehalten in een aantal stofgroottefracties omdat de verspreiding en sedimentatie van stofdeeltjes hiervan afhankelijk zijn;
- het niveau waarop binnen diercategorieën onderscheid gemaakt dient te worden tussen de verschillende huisvestingsvormen.

6.4.2 Modellering verspreiding endotoxine

In de verspreidingsmodellering zal met de voor endotoxinebelasting relevante middelingstijden dienen te worden gewerkt. Deze wijken af van de daggemiddelde waarden die in ISL3a voor PM10-belasting worden gebruikt (zie ook par. 6.2.2). De verspreiding van endotoxine is stoffractie-gebonden. Er zijn duidelijke aanwijzingen dat het endotoxinegehalte in de grotere stofdeeltjes hoger is dan in de kleinere deeltjes. Hiermee dient in de modellering rekening te worden gehouden. Het huidige model voor PM10 dat gebruikt wordt bij vergunningverlening bevat niet de eveneens voor endotoxine uitstoot mogelijk relevante grotere stoffracties. De vraag die daarbij overigens gesteld kan worden is of deze grotere deeltjes in de praktijk daadwerkelijk van belang zijn voor de endotoxine-concentraties op belaste

omgevingspunten. Verwacht mag worden dat grotere deeltjes (>PM10) veel sneller sedimenteren op korte afstand van het emissiepunt. Aanbevolen wordt deze sedimentatie-effecten in een aantal representatieve voorbeeldsituaties door te rekenen, en op basis van de bijdrage van grotere deeltjes aan belaste punten te besluiten of deze fractie in het toetsingskader moet worden meegenomen. Duidelijk is in ieder geval dat het huidige vergunningsmodel voor PM10 -verspreiding (ISL3a) in deze vorm niet één op één geschikt is voor de berekening van endotoxine-belasting. Voortbordurend op de huidige werkwijze van ISL3a ligt het voor de hand een aanvullende modelvariant te ontwikkelen waarin de voor de endotoxine-belasting relevante parameters worden opgenomen. Bij een dergelijke ontwikkeling is het tevens gewenst aandacht te besteden aan een aantal knelpunten die in de huidige uitvoeringspraktijk zijn gesignaleerd. Het gaat hierbij met name om de modellering van stallen met horizontale uitstroming van ventilatielucht, de warmte-inhoud van stallen en het meenemen van de variabiliteit in uitstoot in de berekening van percentielwaarden.

6.4.3 Grenswaarde

De conclusie uit de evaluatie van de literatuur is dat acute effecten op de luchtwegen na blootstelling op de voorgrond treden. Het betreft respiratoire klachten (hoesten, benauwdheid) en acute longfunctieveranderingen. De door de Gezondheidsraad afgeleide grenswaarde voor endotoxinen beschermt in principe ook tegen chronische effecten. Een blootstellingsduur van 8 uur voor de grenswaarde van 30 EU/m³ is een voor de hand liggend uitgangspunt voor de grenswaarde gezien de duur waarna effecten door blootstelling aan endotoxinen optreden. Een volgend uitgangspunt zou kunnen zijn dat de grenswaarde betrekking heeft op de 98-percentielwaarde. Dus, in 98% van alle 8-uursconcentraties over een jaar is de concentratie op dat punt lager dan 30 EU/m³. Dit is een vrij gebruikelijke percentielwaarde voor buitenlucht omdat extreme weersomstandigheden, en de daaruit voortvloeiende hoge concentraties luchtverontreiniging, moeilijk kunnen worden gecontroleerd. Voor de regulering van PM10 wordt het 90-percentiel gehanteerd. Dit is echter een afwijking met ingewikkelde politieke achtergronden die uit de jaren '90 van de vorige eeuw dateren. Hiervoor is nooit een wetenschappelijke of gezondheidskundige onderbouwing geweest. Een 98-percentielwaarde voor 8-uurs-perioden per jaar impliceert dan dat op 22 tijdstippen niveaus worden toegestaan met hogere waarden dan 30 EU/m³. Een aanvullend argument voor een relatief geringe percentielwaarde is dat de marge tussen het niveau waarbij effecten op kunnen treden en het niveau van de grenswaarde gering is. Daarnaast is bekend dat verschillen in individuele gevoeligheid bestaan en een grenswaarde mogelijk niet ieder lid van de bevolking in gelijke mate beschermt. Toekomstig onderzoek, waaronder de studie onder omwonenden zal hier antwoord op moeten geven.

6.4.4 Validatie van het instrument

Naast de voorwaarden voor nadere bepaling van emissiefactoren voor endotoxinen wordt aanbevolen om de toepasbaarheid van het verspreidingsmodel in combinatie met de emissiefactoren te toetsen met waargenomen endotoxineconcentraties in de omgeving. Dit kan door immissiemetingen uit te voeren. Om de voorspellende waarde van de emissieverspreidingsmodellen goed te kunnen beoordelen, verdient het aanbeveling om dit op een beperkt aantal locaties veelvuldig herhaald over de tijd uit te voeren. Door tegelijkertijd emissiemetingen uit te voeren kan de invloed van variabele bronsterkte hiermee eveneens bepaald worden.

7 Conclusies en aanbevelingen

Er is duidelijk een behoefte aan een toetsingskader. Een toetsingskader voor endotoxinen zal om realistisch en haalbaar te zijn in beginsel opgesteld moeten worden vanuit emissiemodellering. In de voorgaande hoofdstukken zijn onderstaande knelpunten gesignaleerd die invoering van een toetsingskader op korte termijn, maar ook een tussentijds toetsingskader op basis van vaste omrekeningsfactoren, niet mogelijk maken.

Gesignaleerde knelpunten zijn:

- er is slechts beperkte informatie over de concentraties van endotoxine in uitgaande stallucht en de emissieniveaus van endotoxinen, welke niet representatief is voor de Nederlandse situatie;
- er is slechts beperkte informatie over het endotoxinegehalte van (fijn)stof in de uitgaande stallucht. Hierdoor is het op dit moment niet mogelijk om op basis van een vaste factor emissieniveaus van endotoxinen uit emissieniveaus van (fijn)stof te berekenen;
- toetsing voor endotoxine heeft een andere middelingsduur dan nu gebruikt wordt voor PM 10 of geur. Uitgegaan moet worden van een middelingsduur van 4 of 8 uur. Verkend moet worden wat het effect is van het modelleren met middelingstijden van 4 en 8 uur op de verkregen concentratieverdeling voordat een definitieve keuze voor een bepaalde middelingstijd kan worden gemaakt. Vervolgens dient de gekozen middelingstijd geïmplementeerd te worden in de verspreidingsmodellen;
- toetsing voor endotoxine zal waarschijnlijk op een hoger percentielwaarde ingericht worden dan nu gebruikt wordt voor PM10. Op basis van de huidige informatie is niet in te schatten wat dit betekent voor de vergelijking tussen normering op PM10, geur en endotoxine.

Oriënterende berekeningen met de nodige aannames lijken erop te wijzen dat huidige toetsingskaders voor geur en fijn stof niet reeds in voldoende mate bescherming bieden tegen te hoge endotoxine-niveaus, dit met name voor pluimveecategorieën. Daarom is het zinvol het ontwerp van een toetsingskader voor endotoxine verder te ontwikkelen. Echter, te kiezen percentielwaardes en middelingstijden voor het toetsingskader voor endotoxinen spelen hierbij een belangrijke rol.

Op basis van de gesignaleerde knelpunten kunnen aanbevelingen gedaan worden die op korte termijn (binnen zes tot negen maanden) inzicht kunnen geven in de impact van een toetsingskader voor endotoxinen in relatie tot reeds bestaande toetsingskaders van fijn stof en geur. Daarnaast worden aanbevelingen gedaan t.a.v. de ontwikkelingen die noodzakelijk zijn om op de lange termijn (binnen anderhalf tot twee jaar) een toetsingskader te ontwikkelen. Hierbij wordt onderscheid gemaakt in aanpassingen van brontechnische aard en aanpassingen van modeltechnische aard.

Brontechnische informatie

Emissiefactoren voor endotoxinen ontbreken voor de Nederlandse situatie.

Op de korte termijn is inzicht te verkrijgen in de emissieniveaus van endotoxinen van naar verwachting belangrijk bijdragende diercategorieën/staltypen door in de zomer en in het najaar een meetcampagne uit te voeren, specifiek gericht op endotoxine, waarbij de analogie gevolgd kan worden van het meetprotocol voor PM10 voor wat betreft de keuze in bedrijven en meetprocedure. Om ook inzicht te verkrijgen in de additionele bijdragen van de grotere stoffractie dient in een dergelijke meetcampagne tevens inhaleerbaar stof bemonsterd te worden. Hiermee kan in relatief kort tijdsbestek een inschatting verkregen worden van emissieniveaus van endotoxine, de bijdragen van de verschillende stoffracties aan emissies, de verhouding tussen endotoxine en stof, en de variatie hierin, zowel tussen bedrijven, als binnen een bedrijf in de tijd.

Op de lange termijn zijn aanvullende emissiemetingen in de winter en het voorjaar nodig en zullen meer diercategorieën/staltypen in de meetcampagne moeten worden betrokken om een valide onderbouwing van de emissiecijfers voor endotoxine te waarborgen.

Modeltechnische informatie

Toetsing van de belasting aan fijn stof en geur in relatie tot de veehouderij vindt plaats met behulp van verspreidingsmodellen. De brontechnische gegevens betreffende emissiefactoren zijn inputvariabelen voor deze modellen. Afhankelijk van de te toetsen stof zijn modellen ontwikkeld voor uurgemiddelde waarden (geur) of daggemiddelde waarden (fijn stof). Voor endotoxine is het logisch om op een 8-uursgemiddelde concentratie te normeren. Dit is op het moment nog niet mogelijk met de bestaande verspreidingsmodellen.

Om op korte termijn de endotoxineverspreiding naar de omgeving te kunnen doorrekenen dienen drie aanpassingen doorgevoerd te worden in de bestaande verspreidingsberekeningen via het Nieuw Nationaal Model. Het model dient zodanig aangepast te worden dat:

- a) gerekend kan worden met middelingstijden van zowel 4 als 8 uur;
- b) de verspreiding van deeltjes groter dan 10 µm en de component endotoxine in de berekening kunnen worden meegenomen, en
- c) het model met verschillende percentielwaarden uitgevoerd kan worden.

Het laatste is vooral van belang om het effect van verschillende overschrijdingskansen door te kunnen rekenen. Verder wordt inzicht verkregen in de invloed van te maken keuzes t.a.v. een bepaalde middelingstijd (4 of 8 uur) en het wel of niet modelleren van verspreiding van grotere stofdeeltjes (met endotoxine) op de gemodelleerde concentratieverdelingen van stof en endotoxinen. Door dit gericht toe te passen op een aantal scenario's voor de pluimvee- en varkenshouderij kan binnen circa driekwart jaar een inschatting worden verkregen van de mate waarin een toetsingskader voor endotoxine restrictief zal zijn in relatie tot reeds bestaande toetsingskaders van fijn stof en geur. De genoemde aanpassingen zijn relatief eenvoudig in Stacks door te voeren.

Op de lange termijn dient het verspreidingsmodel aangepast te worden zodat bronvariatie op een goede manier meegenomen kan worden in de verspreidingsmodellering. Verwacht wordt dat de bronvariatie voor endotoxine groter zal zijn dan die voor stof, waardoor deze aanpassing nog meer noodzakelijk is. Daarnaast is er behoefte om schattingen mogelijk te maken voor locaties die door meerdere bedrijven belast worden (cumulatieve situaties) voor toetsing in het kader van omgevingsvergunningen.

Validatie

Als laatste wordt aanbevolen de ontwikkelde verspreidingsmodellen te valideren. Deze validatie dient zowel verricht te worden op korte afstand van veehouderijbedrijven wanneer sprake is van één belastend bedrijf, alsook op locaties die door meerdere bedrijven belast worden. Dit is mogelijk door bij een beperkt aantal bedrijven vaker herhaald in de tijd zowel emissie- en immissiemetingen uit te voeren, alsook door herhaalde metingen op hoog cumulatief belaste locaties en laag cumulatief belaste locaties.

Referenties

- Aarnink, A. J. A., P. F. M. M. Roelofs, H. H. Ellen, and H. Gunnink. 1999. Dust sources in animal houses. In *International Symposium on Dust Control in Animal Production Facilities, 30 May - 2 June 1999*, 34-40. Scandinavian Congress Centre, Aarhus, Denmark: Danish Institute of Animal Science
- Aarnink, A. J. A., and N. Stockhofe-Zurwieden. 2003. Pig house dust damage. *Pig progress* 19(6):17-19.
- Aarnink, A. J. A., and H. H. Ellen. 2006. *Processen en factoren bij fijn stofemissie in de veehouderij [Processes and factors influencing fine dust emissions from livestock production]*. Report 11. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Animal Sciences Group.
- Aarnink, A. J. A., M. Cambra-López, T. L. H. Lai, and N. W. M. Ogink. 2011. *Deeltjesgrootteverdeling en bronnen van stof in stallen [Size distribution and sources of particulate matter in animal houses]*. Report 452. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Aarnink, A. J. A., H. I. J. Roest, J. W. H. Huis in 't Veld, M. C. Van der Hulst, J. M. G. Hol, J. Mosquera, and N. W. M. Ogink. 2014a. *Emissies van stof en ziektekiemen uit melkgeitenstallen; aanvullende metingen*. Report in draft. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Aarnink, A. J. A., T. G. Van Hattum, and N. W. M. Ogink. 2014b. *Variations of bacteria and endotoxin concentrations in houses for fattening pigs and broilers within and between days*. Report in draft. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Aarnink, A. J. A., Y. Zhao, A. Dekker, and N. W. M. Ogink. 2014c. *Processen en factoren bij de emissie van bioaerosolen uit stalgebouwen [Processes and factors in the emission of bioaerosols from animal houses]*. Rapport, in concept. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Akbar-Khanzadeh, F., A. Ames, M. Bisesi, S. Milz, K. Czajkowski, and A. Kumar. 2012. Particulate matter (PM) exposure assessment horizontal and vertical PM profiles in relation to agricultural activities and environmental factors in farm fields. *J. Occup. Environ. Hyg.* 9(8):502-516.
- Allen, J., K. Bartlett, M. Graham, and P. Jackson. 2011. Ambient concentrations of airborne endotoxin in two cities in the interior of British Columbia, Canada. *J. Environ. Monit.* 13(3):631-640.
- Arbour, N. C., E. Lorenz, B. C. Schutte, J. Zabner, J. N. Kline, M. Jones, K. Frees, J. L. Watt, and D. A. Schwartz. 2000. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat. Genet.* 25(2):187-191.
- Attwood, P., R. Brouwer, P. Ruigewaard, P. Versloot, R. de Wit, D. Heederik, and J. S. Boleij. 1987. A study of the relationship between airborne contaminants and environmental factors in Dutch swine confinement buildings. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 48(8):745-751.
- Banhazi, T. M., J. Seedorf, D. L. Rutley, and W. S. Pitchford. 2005. Statistical modeling of airborne bacteria and endotoxins concentrations in Australian piggy buildings. In *Livestock Environment VII - Proceedings of the Seventh International Symposium*, 72-78. M. J. Briggs, and M. E. McCormick, eds. Baltimore, MD.
- Basinas, I., V. Schlünssen, D. Heederik, T. Sigsgaard, L. A. M. Smit, S. Samadi, Ø. Omland, C. Hjort, A. M. Madsen, S. Skov, and I. M. Wouters. 2012. Sensitisation to common allergens and respiratory symptoms in endotoxin exposed workers: A pooled analysis. *Occup. Environ. Med.* 69(2):99-106.
- Basinas, I., T. Sigsgaard, H. Kromhout, D. Heederik, I. M. Wouters, and V. Schlünssen. 2013. A comprehensive review of levels and determinants of personal exposure to dust and endotoxin in livestock farming. *J. Expos. Sci. Environ. Epidemiol.*
- Basinas, I., T. Sigsgaard, M. Erlandsen, N. T. Andersen, H. Takai, D. Heederick, Ø. Omland, H. Kromhout, and V. Schlünssen. 2014. Exposure affecting factors of dairy farmers' exposure to inhalable dust and endotoxin. *Submitted paper; conditionally accepted*.
- Braun-Fahrländer, C., J. Riedler, U. Herz, W. Eder, M. Waser, L. Grize, S. Maisch, D. Carr, F. Gerlach, A. Bufe, R. P. Lauener, R. Schierl, H. Renz, D. Nowak, and E. Von Mutius. 2002. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *New Engl. J. Med.* 347(12):869-877.
- Brooks, J. P., B. D. Tanner, C. P. Gerba, and I. L. Pepper. 2006. The measurement of aerosolized endotoxin from land application of Class B biosolids in Southeast Arizona. *Can. J. Microbiol.* 52(2):150-156.

- Brooks, J. P., S. L. Maxwell, C. Rensing, C. P. Gerba, and I. L. Pepper. 2007. Occurrence of antibiotic - resistant bacteria and endotoxin associated with the land application of biosolids. *Can. J. Microbiol.* 53(5):616-622.
- Bull, M. 2008. Investigation of the impact of intensive broiler rearing on local fine particulate matter concentrations. *Water and Environment Journal* 22(1):25-31.
- Cambra-López, M., T. Hermosilla, H. T. L. Lai, A. J. A. Aarnink, and N. W. M. Ogink. 2011. Particulate matter emitted from poultry and pig houses: Source identification and quantification. *Trans. ASABE* 54(2):629-642.
- Carty, C. L., U. Gehring, J. Cyrus, W. Bischof, and J. Heinrich. 2003. Seasonal variability of endotoxin in ambient fine particulate matter. *J. Environ. Monit.* 5(6):953-958.
- CEN. 1993. EN 481:1993. Workplace atmospheres- Size fraction definitions for measurement of airborne particles. Brussels, Belgium: Comité Européen de Normalisation (CEN; European Committee for Standardization).
- CEN. 1998. EN 12341:1998. Air quality - Determination of the PM 10 fraction of suspended particulate matter - Reference method and field test procedure to demonstrate reference equivalence of measurement methods. Brussels, Belgium: Comité Européen de Normalisation (CEN; European Committee for Standardization).
- CEN. 2003. EN 14031:2003. Workplace atmospheres- Determination of airborne endotoxins. 14. Brussels, Belgium: Comité Européen de Normalisation (CEN; European Committee for Standardization).
- Christiani, D. C., X. R. Wang, L. D. Pan, H. X. Zhang, B. X. Sun, H. Dai, E. A. Eisen, D. H. Wegman, and S. A. Olenchock. 2001. Longitudinal changes in pulmonary function and respiratory symptoms in cotton textile workers: A 15-yr follow-up study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163(4):847-853.
- Chun, D. T. W., V. Chew, K. Bartlett, T. Gordon, R. R. Jacobs, B. M. Larsson, D. M. Lewis, J. Liesivuori, O. Michel, R. Rylander, P. S. Thorne, E. M. White, V. C. Gunn, and H. Würtz. 2002. Second inter - laboratory study comparing endotoxin assay results from cotton dust. *Ann. Agric. Environ. Med.* 9(1):49-53.
- Chun, D. T. W., K. Bartlett, T. Gordon, R. R. Jacobs, B. M. Larsson, L. Larsson, D. M. Lewis, J. Liesivuori, O. Michel, D. K. Milton, R. Rylander, P. S. Thorne, E. M. White, M. E. Brown, V. S. Gunn, and H. Würtz. 2006. History and results of the two inter-laboratory round robin endotoxin assay studies on cotton dust. *Am. J. Ind. Med.* 49(4):301-306.
- Curtis, S. E., J. G. Drummond, D. J. Grunloh, P. B. Lynch, and A. H. Jensen. 1975. Relative and qualitative aspects of aerial bacteria and dust in swine houses. *J. Anim. Sci.* 41(5):1512-1520.
- De Buissonjé, F. E., R. W. Melse, J. Mosquera, and N. Verdoes. 2013. *Inventarisatie emissies en geluidsoverlast van mestbewerkingsinstallaties en eventuele maatregelen*. Report 703. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- De Haan, B. J., J. D. van Dam, W. J. Willems, M. W. van Schijndel, S. M. van der Sluis, G. J. van den Born, and J. J. M. van Grinsven. 2009. *Emissiearm bemesten geëvalueerd*. PBL Report 500155001. Bilthoven, the Netherlands: Planbureau voor de Leefomgeving.
- Deacon, L., L. Pankhurst, J. Liu, G. H. Drew, E. T. Hayes, S. Jackson, J. Longhurst, P. Longhurst, S. Pollard, and S. Tyrrel. 2009. Endotoxin emissions from commercial composting activities. *Environ. Health Global Access Sci. Sour.* 8(SUPPL. 1).
- Di Luzio, N. R., and T. J. Friedmann. 1973. Bacterial endotoxins in the environment. *NATURE* 244(5410):49-51.
- Donham, K. J., W. Pependorf, U. Palmgren, and L. Larsson. 1986. Characterization of dusts collected from swine confinement buildings. *Am. J. Ind. Med.* 10(3):294-297.
- Donham, K. J., D. Cumro, S. J. Reynolds, and J. A. Merchant. 2000. Dose -response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: Recommendations for exposure limits. *J. Occup. Environ. Med.* 42(3):260-269.
- Douwes, J., P. Versloot, A. Hollander, D. Heederik, and G. Doekes. 1995. Influence of various dust sampling and extraction methods on the measurement of airborne endotoxin. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 61(5):1763-1769.
- Douwes, J., P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik. 2003. Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects. *Ann. Occup. Hyg.* 47(3):187-200.
- Duchaine, C., Y. Grimard, and Y. Cormier. 2000. Influence of building maintenance, environmental factors, and seasons on airborne contaminants of swine confinement buildings. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 61(1):56-63.

- Duchaine, C., P. S. Thorne, A. Mériaux, Y. Grimard, P. Whitten, and Y. Cormier. 2001. Comparison of Endotoxin Exposure Assessment by Bioaerosol Impinger and Filter-Sampling Methods. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 67(6):2775-2780.
- Dungan, R. S., and A. B. Leytem. 2009. Airborne endotoxin concentrations at a large open-lot dairy in Southern Idaho. *J. Environ. Qual.* 38(5):1919-1923.
- Dungan, R. S. 2010. Board-invited review: Fate and transport of bioaerosols associated with livestock operations and manures. *J. Anim. Sci.* 88(11):3693-3706.
- Dungan, R. S., A. B. Leytem, and D. B. Bjorneberg. 2010. Year-long assessment of airborne endotoxin at a concentrated dairy operation. *Aerobiologia* 26(2):141-148.
- Dungan, R. S., and A. B. Leytem. 2011. Ambient endotoxin concentrations and assessment of offsite transport at open-lot and open-freestall dairies. *J. Environ. Qual.* 40(2):462-467.
- Dungan, R. S., A. B. Leytem, and D. L. Bjorneberg. 2011. Concentrations of airborne endotoxin and microorganisms at a 10,000-cow open-freestall dairy. *J. Anim. Sci.* 89(10):3300-3309.
- Duquenne, P., G. Marchand, and C. Duchaine. 2013. Measurement of endotoxins in bioaerosols at workplace: a critical review of literature and a standardization issue. *Ann. Occup. Hyg.* 57(2):137-172.
- Dusseldorp, A., P. C. C. Sijnesael, D. Heederik, G. Doekes, and A. W. Van de Giessen. 2008. *Intensieve veehouderij en gezondheid - Overzicht van kennis over werknemers en omwonenden*. RIVM Briefrapport 609300006. Bilthoven, the Netherlands: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu & Institute for Risk Assessment Sciences, Universiteit Utrecht.
- Ellen, H. H., J. M. G. Hol, J. W. H. Huis in't Veld, G. M. Nijeboer, J. P. M. Ploegaert, and N. W. M. Ogink. 2013. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit de pluimveehouderij: validatie van een warmtewisselaar op vleeskuikenbedrijven*. Report 621. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- EU. 2008. Directive 2008/50/EC of the European Parliament and of the Council of 21 May 2008 on ambient air quality and cleaner air for Europe. *Official Journal of the European Union* L152:1-44.
- Fast, T., and R. Nijdam. 2013. *Beoordelingskader gezondheid en milieu intensieve veehouderijen*. Tilburg: Bureau GMV, GGD'en Brabant/Zeeland.
- Feddes, J. J. R., H. Cook, and Z. M. J. 1992. Characterization of airborne dust particles in turkey housing. *Canadian Agricultural Engineering* 34(3):273-280.
- Gattie, D. K., and D. L. Lewis. 2004. A high-level disinfection standard for land-applied sewage sludges (biosolids). *Environ. Health Perspect.* 112(2):126-131.
- Gerba, C. P., and J. E. Smith Jr. 2005. Sources of pathogenic microorganisms and their fate during land application of wastes. *J. Environ. Qual.* 34(1):42-48.
- Gezondheidsraad. 1998. *Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit*. The Hague, the Netherlands: Gezondheidsraad (Health Council of the Netherlands).
- Gezondheidsraad. 2008. *Onzekerheidsfactoren bij risicobeoordeling [Uncertainty factors in risk assessment]*. Publicatienr. 2008/13. Den Haag, Nederland: Gezondheidsraad.
- Gezondheidsraad. 2010. *Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit*. Publication number 2010/04OSH. The Hague, the Netherlands: Gezondheidsraad (Health Council of the Netherlands).
- Gezondheidsraad. 2012. *Gezondheidsrisico's rond veehouderijen*. Publicatie 2012/27. Den Haag: Gezondheidsraad.
- Görner, P., X. Simon, R. Wrobel, E. Kauffer, and O. Witschger. 2010. Laboratory study of selected personal inhalable aerosol samplers. *Ann. Occup. Hyg.* 54(2):165-187.
- Goyal, S. M., C. P. Gerba, and J. C. Lance. 1980. Movement of endotoxin through soil columns. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 39(3):544-547.
- Groenestein, C. M., J. F. M. Huijsmans, and R. L. M. Schils. 2010. *Emissies van broeikasgassen, ammoniak, fijn stof en geur in de mestketen [Emissions of greenhouse gases, ammonia, fine dust and odour in the manure chain]*. Report 248. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Hartung, J., J. Seedorf, T. Trickl, and H. Gronauer. 1998. Emission and distribution of particulates from a piggery with a central air exhaust. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 105(6):244-245.
- Hartung, J., and J. Seedorf. 1999. Orientating investigations of atmospheric endotoxin concentrations. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 106(12):522-525.
- Heber, A. J., M. Stroik, J. M. Faubion, and L. H. Willard. 1988. Size distribution and identification of aerial dust particles in swine finishing buildings. *Trans ASAE* 31(3):882-887.

-
- Heederik, D., A. J. F. Verbeek, P. Wielaard, and J. J. Maas. 2013. *Dossier endotoxinen*. Kennisdossier Arbokennisnet. Online beschikbaar op http://www.arbokennisnet.nl/kennisdossier_gevaarlijke_stoffen.html.
- Heederik, D. J. J., A. J. W. Opstal-van Winden, L. A. M. Smit, I. M. Wouters, M. Hooiveld, C. J. IJzermans, F. van der Sman-de Beer, P. P. M. Spreeuwenberg, A. de Bruin, and B. van Rotterdam. 2011. Mogelijke effecten van intensieve-veehouderij op de gezondheid van omwonenden: onderzoek naar potentiële blootstelling en gezondheidsproblemen. Institute for Risk Assessment Sciences (IRAS), Universiteit Utrecht; Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg (NIVEL); Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Utrecht, the Netherlands.
- Heinrich, J., M. Pitz, W. Bischof, N. Krug, and P. J. A. Borm. 2003. Endotoxin in fine (PM_{2.5}) and coarse (PM_{2.5-10}) particle mass of ambient aerosols. A temporo-spatial analysis. *Atmos. Environ.* 37(26):3659-3667.
- Hinz, T., S. Linke, S. Wartemann, and J. Berk. 2007. Airborne contaminants in an alternative turkey house 2. Particulate matter. *Landbauforsch. Volkenrode* 57(4):409-414.
- Hoeksma, P., and J. Mosquera. 2008. *Protocol voor het meten van gasvormige emissies en stof van mestbe- en verwerkingsinstallaties*. Report 167. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Animal Sciences Group.
- Hofschreuder, P., Z. Yang, A. J. A. Aarnink, and N. W. M. Ogink. 2008. *Measurement protocol for emissions of fine dust from animal houses: considerations, draft protocol and validation*. Report 134. Lelystad, the Netherlands: Animal Sciences Group, Wageningen University and Research Centre.
- Hofschreuder, P., and N. W. M. Ogink. 2013. *Overschrijdingsberekening van fijnstofnormen rond pluimveestallen: effect van variabele stofemissie en warmteuitstoot*. Rapport 688. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Hollander, A., D. Heederik, P. Versloot, and J. Douwes. 1993. Inhibition and enhancement in the analysis of airborne endotoxin levels in various occupational environments. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 54(11):647-653.
- Hryhorczuk, D., L. Curtis, P. Scheff, J. Chung, M. Rizzo, C. Lewis, N. Keys, and M. Moomey. 2001. Bioaerosol emissions from a suburban yard waste composting facility. *Ann. Agric. Environ. Med.* 8(2):177-185.
- Huneau-Salaün, A., S. Le Bouquin, V. Bex-Capelle, D. Huonnic, L. Balaine, M. T. Guillam, F. Squizani, C. Segala, and V. Michel. 2011. Endotoxin concentration in poultry houses for laying hens kept in cages or in alternative housing systems. *Brit. Poultry. Sci.* 52(5):523-530.
- InfoMil. 2010. *Handreiking fijn stof en veehouderijen*. AgentschapNL, Ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer.
- InfoMil. 2014. *NNM en het Paarse Boekje (website)*. URL: <http://www.infomil.nl/onderwerpen/klimaat-lucht/luchtkwaliteit/rekenen-meten/nnm/paarse-boekje>. Website bezocht op 31 januari 2014.
- Jahne, M., S. Kim, J. Castilleja, S. Grimberg, T. Holsen, and S. Rogers. 2011. Impacts of manure spreading on downwind air quality: Particles, ammonia, and bioaerosols. In *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting 2011*, 3280-3292. Louisville, KY.
- Jones, W., K. Moring, S. A. Olenchock, T. Williams, and J. Hickey. 1984. Environmental study of poultry confinement buildings. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 45(11):760-766.
- Kenny, L. C., R. Aitken, C. Chalmers, J. F. Fabriès, E. Gonzalez-Fernandez, H. Kromhout, G. Lidén, D. Mark, G. Riediger, and V. Prodi. 1997. A collaborative european study of personal inhalable aerosol sampler performance. *Ann. Occup. Hyg.* 41(2):135-153.
- Kiekhafer, M. S., K. J. Donham, P. Whitten, and P. S. Thorne. 1995. Cross seasonal studies of airborne microbial populations and environment in swine buildings: implications for worker and animal health. *The Annals of the Agricultural and Environmental Medicine* 2:37-44.
- Kiryuchuk, S. P., J. A. Dosman, S. J. Reynolds, P. Willson, A. Senthilselvan, J. J. R. Feddes, H. L. Classen, and W. Guenter. 2006. Total dust and endotoxin in poultry operations: Comparison between cage and floor housing and respiratory effects in workers. *J. Occup. Environ. Med.* 48(7):741-748.
- Kiryuchuk, S. P., S. J. Reynolds, N. K. Koehncke, J. Lawson, P. Willson, A. Senthilselvan, D. Marciniuk, H. L. Classen, T. Crowe, N. Just, D. Schneberger, and J. A. Dosman. 2010. Endotoxin and dust at respirable and nonrespirable particle sizes are not consistent between cage- and floor-housed poultry operations. *Ann. Occup. Hyg.* 54(7):824-832.
- Kline, J. N., J. D. Cowden, G. W. Hunninghake, B. C. Schutte, J. L. Watt, C. L. Wohlford-Lenane, L. S. Powers, M. P. Jones, and D. A. Schwartz. 1999. Variable airway responsiveness to inhaled lipopolysaccharide. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 160(1):297-303.

-
- Ko, G., O. D. Simmons III, C. A. Likirdopoulos, L. Worley-Davis, C. M. Williams, and M. D. Sobsey. 2010. Endotoxin levels at swine farms using different waste treatment and management technologies. *Environ. Sci. Technol.* 44(9):3442-3448.
- Koon, J., J. R. Howes, W. Grub, and C. A. Rollo. 1963. Poultry dust: origin and composition. *Agricultural Engineering* 44:608-609.
- Kornalijslijper, J. E., J. C. Rahamat-Langendoen, and Y. T. H. P. Van Duynhoven. 2008. *Volksgezondheidsaspecten van veehouderij-megabedrijven in Nederland - Zoönosen en antibioticumresistentie*. RIVM Briefrapport 215011002. Bilthoven, the Netherlands: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.
- Kromhout, H., E. Symanski, and S. M. Rappaport. 1993. A comprehensive evaluation of within- and between-worker components of occupational exposure to chemical agents. *Ann. Occup. Hyg.* 37(3):253-270.
- Kromhout, H., and R. Vermeulen. 2001. Temporal, personal and spatial variability in dermal exposure. *Ann. Occup. Hyg.* 45(4):257-273.
- Kromhout, H., W. Fransman, R. Vermeulen, M. Roff, and J. J. Van Hemmen. 2004. Variability of Task -based Dermal Exposure Measurements from a Variety of Workplaces. *Ann. Occup. Hyg.* 48(3):187-196.
- Lavoie, J., S. Godbout, S. P. Lemay, and M. Belzile. 2009. Impact of in -barn manure separation on biological air quality in an experimental setup identical to that in swine buildings. *J Agric Saf Health* 15(3):225-240.
- Lawniczek-Walczyk, A., R. L. Gorny, M. Golofit-Szymczak, A. Niesler, and A. Wlazlo. 2013. Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and β -glucans in poultry houses at different stages of the production cycle. *Ann. Agric. Environ. Med.* 20(2):259-268.
- Li, Q., L. Wang, E. Oviedo-Rondón, and C. B. Parnell. 2010. Effect of ozonation on particulate matter in broiler houses. *Poult. Sci.* 89(10):2052-2062.
- Li, Q. F., L. Wang-Li, J. T. Walker, S. B. Shah, P. Bloomfield, and R. K. M. Jayanty. 2012. Particulate matter in the vicinity of an egg production facility: Concentrations, statistical distributions, and upwind and downwind comparison. *Trans. ASABE* 55(5):1965-1973.
- Liebers, V., T. Brüning, and M. Raulf-Heimsoth. 2006. Occupational endotoxin-exposure and possible health effects on humans. *Am. J. Ind. Med.* 49(6):474-491.
- Liebers, V., M. Raulf-Heimsoth, and T. Brüning. 2008. Health effects due to endotoxin inhalation (review). *Arch. Toxicol.* 82(4):203-210.
- Low, S. Y., T. Paez-Rubio, C. Baertsch, M. Kucharski, and J. Peccia. 2007. Off-site exposure to respirable aerosols produced during the disk-incorporation of class B biosolids. *J. Environ. Eng.* 133(10):987-994.
- Maassen, C. B. M., E. Van Duijkeren, Y. T. H. P. Van Duynhoven, A. Dusseldorp, P. Geenen, A. A. De Koeijer, M. P. G. Koopmans, F. Loos, W. F. Jacobs-Reitsma, R. De Jonge, and A. W. Van de Giessen. 2012. *Infectierisico's van de veehouderij voor omwonenden [Risk of infections from livestock farming for people living nearby; in Dutch, with English abstract]*. RIVM Report 609400004. Bilthoven, the Netherlands: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.
- Madsen, A. M., and J. E. Johansen. 2003. *Concentrations of endotoxin in an agricultural field in Zealand, Denmark, before and during bringing out slurry*. Unpublished data; personal communication, 6 January 2014.
- Madsen, A. M. 2006. Airborne endotoxin in different background environments and seasons. *Ann. Agric. Environ. Med.* 13(1):81-86.
- Martens, W., M. Martinec, R. Zapirain, M. Stark, E. Hartung, and U. Palmgren. 2001. Reduction potential of microbial, odour and ammonia emissions from a pig facility by biofilters. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 203(4):335-345.
- Martin, R. S., P. J. Silva, K. Moore, M. Erupe, and V. S. Doshi. 2008. Particle composition and size distributions in and around a deep-pit swine operation, Ames, IA. *Journal of Atmospheric Chemistry* 59(2):135-150.
- Masclaux, F. G., O. Sakwinska, N. Charrière, E. Semaani, and A. Oppliger. 2013. Concentration of airborne staphylococcus aureus (MRSA and MSSA), total bacteria, and endotoxins in pig farms. *Ann. Occup. Hyg.* 57(5):550-557.
- Mawdsley, J. L., R. D. Bardgett, R. J. Merry, B. F. Pain, and M. K. Theodorou. 1995. Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution. *Appl. Soil Ecol.* 2(1):1-15.

-
- Melse, R. W., J. M. G. Hol, F. Dousma, G. M. Nijeboer, and J. W. M. Huis in 't Veld. 2011. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit pluimveehouderij: validatie van een luchtwassysteem met water als wasvloeistof bij twee pluimveebedrijven [Measures to reduce fine dust emissions from poultry housings: validation of a scrubber system with water as scrubbing solution at two poultry farms]*. Report 502. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Menetrez, M. Y., K. K. Foarde, R. K. Esch, T. D. Schwartz, T. R. Dean, M. D. Hays, S. H. Cho, D. A. Betancourt, and S. A. Moore. 2009. An evaluation of indoor and outdoor biological particulate matter. *Atmos. Environ.* 43(34):5476-5483.
- Mol, G., and N. W. M. Ogink. 2002. *Geuremissies uit de veehouderij II: overzichtsrapportage 2000 -2002*. IMAG Rapport 2002-09. Wageningen, the Netherlands: Instituut voor Milieu - en Agritechniek (IMAG).
- Morgenstern, V., C. L. Carty, U. Gehring, J. Cyrys, W. Bischof, and J. Heinrich. 2005. Lack of spatial variation of endotoxin in ambient particulate matter across a German metropolitan area. *Atmos. Environ.* 39(36):6931-6941.
- Mosquera, J., R. A. van Emous, A. Winkel, F. Dousma, E. Lovink, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2009a. *Fijnstofemissie uit stallen: (groot)ouderdieren van vleeskuikens [Dust emission from animal houses: broiler breeders]*. Report 276. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., A. Winkel, F. Dousma, E. Lovink, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2009b. *Fijnstofemissie uit stallen: leghennen in scharrelhuisvesting [Dust emission from animal houses: layer hens in floor housing]*. Report 279. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., A. Winkel, R. K. Kwikkel, F. A. Gerrits, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2009c. *Fijnstofemissie uit stallen: vleeskalkoenen [Dust emission from animal houses: turkeys]*. Report 277. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, P. Hoeksma, and C. M. Groenestein. 2010a. *Emissiemetingen mestverwerkinginstallaties*. Report 402. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, A. Winkel, i. Huis, J. W. H. t Veld, F. A. Gerrits, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2010b. *Fijnstofemissie uit stallen: melkvee [Dust emission from animal houses: dairy cattle]*. Report 296. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, A. Winkel, E. Lovink, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2010c. *Fijnstofemissie uit stallen: vleesvarkens [Dust emission from animal houses: growing and finishing pigs]*. Report 292. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, A. Winkel, G. M. Nijeboer, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2010d. *Fijnstofemissie uit stallen: dragende zeugen [Dust emission from animal houses: pregnant sows]*. Report 294. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, R. W. Melse, A. Winkel, G. M. Nijeboer, J. P. M. Ploegaert, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2011a. *Fijnstofemissie uit stallen: luchtwassers [Dust emission from animal houses: air scrubbing techniques]*. Report 295. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., J. M. G. Hol, A. Winkel, J. W. H. Huis in 't Veld, F. Dousma, N. W. M. Ogink, and C. M. Groenestein. 2011b. *Fijnstofemissie uit stallen: nertsen [Dust emission from animal houses: minks]*. Report 340. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mosquera, J., H. H. Ellen, J. M. G. Hol, J. W. H. Huis in't Veld, G. M. Nijeboer, J. P. M. Ploegaert, and N. W. M. Ogink. 2013. *Emissies uit een vleeskuikenstal met strooiselbeluchting en warmtewisselaar: Meetprogramma Integraal Duurzame Stallen*. Report 657. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Mueller-Anneling, L., E. Avol, J. M. Peters, and P. S. Thorne. 2004. Ambient endotoxin concentrations in PM10 from Southern California. *Environ. Health Perspect.* 112(5):583-588.
- Nilsson, S., A. S. Merritt, and T. Bellander. 2011. Endotoxins in urban air in Stockholm, Sweden. *Atmos. Environ.* 45(1):266-270.

-
- Noss, I., I. M. Wouters, M. Visser, D. J. J. Heederik, P. S. Thorne, B. Brunekreef, and G. Doekes. 2008. Evaluation of a low-cost electrostatic dust fall collector for indoor air endotoxin exposure assessment. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 74(18):5621-5627.
- O'Connor, A. M., B. Auvermann, D. Bickett-Weddle, S. Kirkhorn, J. M. Sargeant, A. Ramirez, and S. G. Von Essen. 2010. The association between proximity to animal feeding operations and community health: A systematic review. *PLoS ONE* 5(3).
- Ogink, N. W. M., M. M. de Ruiter, P. W. G. Groot Koerkamp, and C. E. van 't Klooster. 1997a. Emissions of dust and endotoxins from swine house buildings. In *ASAE Annual International Meeting*. August 10-14, 1997. Minneapolis, USA.
- 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. W. M., and P. N. L. Lens. 2001. *Geuremissie uit de Veehouderij. Overzichtsrapportage van geurmetingen in de varkenshouderij, pluimveehouderij en rundveehouderij*. IMAG-rapport 2001-14. Wageningen, the Netherlands: Instituut voor Milieu - en Agritechniek (IMAG).
- Ogink, N. W. M. 2010. *Vaststelling van geuremissiefactoren in de regeling geurhinder en veehouderij op basis van geuremissie-onderzoek [Assignment of odour emission factors in the Dutch regulation on odour nuisance in animal production based on odour emission research]*. Report 391. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Ogink, N. W. M., and A. J. A. Aarnink. 2011. *Plan van aanpak bedrijfsoplossingen voor fijnstofreductie in de pluimveehouderij [Plan of action for particulate matter mitigation solutions in poultry]*. Report 113. Lelystad, the Netherlands: Animal Sciences Group, Wageningen University and Research Centre.
- Ogink, N. W. M., P. Hofschreuder, and A. J. A. Aarnink. 2011a. *Protocol voor meting van fijnstofemissie uit huisvestingssystemen in de veehouderij 2010 [Protocol for the measurement of fine emissions from housings in animal production 2010]*. Report 492. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Ogink, N. W. M., J. Mosquera, and J. M. G. Hol. 2011b. *Protocol voor meting van ammoniakemissie uit huisvestingssystemen in de veehouderij 2010 [Measurement protocol for ammonia emission from housing systems in livestock production 2010]*. Report 454. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Olenchock, S. A., S. W. Lenhart, and J. C. Mull. 1982. Occupational exposure to airborne endotoxins during poultry processing. *J. TOXICOL. ENVIRON. HEALTH* 9(2):339-349.
- Oppliger, A., N. Charrière, P. O. Droz, and T. Rinsoz. 2008. Exposure to bioaerosols in poultry houses at different stages of fattening; use of real-time PCR for airborne bacterial quantification. *Ann. Occup. Hyg.* 52(5):405-412.
- Paez-Rubio, T., H. Xin, J. Anderson, and J. Peccia. 2006. Particulate matter composition and emission rates from the disk incorporation of class B biosolids into soil. *Atmos. Environ.* 40(36):7034-7045.
- Paez-Rubio, T., A. Ramarui, J. Sommer, H. Xin, J. Anderson, and J. Peccia. 2007. Emission rates and characterization of aerosols produced during the spreading of dewatered class B biosolids. *Environ. Sci. Technol.* 41(10):3537-3544.
- Pankhurst, L. J., L. J. Deacon, J. Liu, G. H. Drew, E. T. Hayes, S. Jackson, P. J. Longhurst, J. W. S. Longhurst, S. J. T. Pollard, and S. F. Tyrrel. 2011. Spatial variations in airborne microorganism and endotoxin concentrations at green waste composting facilities. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214(5):376-383.
- Park, J. H., D. L. Spiegelman, H. A. Burge, D. R. Gold, G. L. Chew, and D. K. Milton. 2000. Longitudinal study of dust and airborne endotoxin in the home. *Environ. Health Perspect.* 108(11):1023-1028.
- Pedersen, S., and H. Takai. 1999. Dust response to animal activity. In *Int. Symp. on Dust Control in Animal Production Facilities*, 306-309. Scandinavian Congress Center, Aarhus, Denmark: Danish Institute of Agricultural Sciences, Horsens, Denmark.
- Portengen, L., L. Preller, M. Tielen, G. Doekes, and D. Heederik. 2005. Endotoxin exposure and atopic sensitization in adult pig farmers. *J. Allergy Clin. Immunol.* 115(4):797-802.
- Preller, L., D. Heederik, H. Kromhout, J. S. M. Boleij, and M. J. M. Tielen. 1995. Determinants of dust and endotoxin exposure of pig farmers: Development of a control strategy using empirical modelling. *Ann. Occup. Hyg.* 39(5):545-557.
- Radon, K., A. Schulze, V. Ehrenstein, R. T. van Strien, G. Praml, and D. Nowak. 2007. Environmental exposure to confined animal feeding operations and respiratory health of neighboring residents. *Epidemiology* 18(3):300-308.

- Reynolds, S. J., P. S. Thorne, K. J. Donham, E. A. Croteau, K. M. Kelly, D. Lewis, M. Whitmer, D. J. J. Heederik, J. Douwes, I. Connaughton, S. Koch, P. Malmberg, B. M. Larsson, and D. K. Milton. 2002. Comparison of endotoxin assays using agricultural dusts. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 63(4):430-438.
- Reynolds, S. J., D. K. Milton, D. Heederik, P. S. Thorne, K. J. Donham, E. A. Croteau, K. M. Kelly, J. Douwes, D. Lewis, M. Whitmer, I. Connaughton, S. Koch, P. Malmberg, B. M. Larsson, J. Deddens, A. Saraf, and L. Larsson. 2005. Interlaboratory evaluation of endotoxin analyses in agricultural dusts - Comparison of LAL assay and mass spectrometry. *J. Environ. Monit.* 7(12):1371-1377.
- Rietschel, E. T., L. Brade, U. Schade, U. Seydel, U. Zahringer, K. Brandenburg, I. Helander, O. Holst, S. Kondo, H. M. Kuhn, B. Lindner, E. Rohrscheidt, R. Russa, H. Labischinski, D. Naumann, and H. Brade. 1990. Bacterial lipopolysaccharides: Relationship of structure and conformation to endotoxic activity, serological specificity and biological function. *ADV. EXP. MED. BIOL.* 256:81-99.
- Rullo, V. E. V., M. C. Rizzo, L. K. Arruda, D. Solé, and C. K. Naspitz. 2002. Daycare centers and schools as sources of exposure to mites, cockroach, and endotoxin in the city of São Paulo, Brazil. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110(4):582-588.
- Rylander, R. 1997. Endotoxins in the environment: A criteria document. *Int. J. Occup. And Env. Health* supp. 3(1):S1-S48.
- Rylander, R. 2002. Endotoxin in the environment - Exposure and effects. *J. Endotoxin Res.* 8(4):241-252.
- Saito, R., B. K. Cranmer, J. D. Tessari, L. Larsson, J. M. Mehaffy, T. J. Keefe, and S. J. Reynolds. 2009. Recombinant factor C (rFC) assay and Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) analysis of endotoxin variability in four agricultural dusts. *Ann. Occup. Hyg.* 53(7):713-722.
- Samadi, S., F. J. C. M. Van Eerdenburg, A. R. Jamshidifard, G. P. Otten, M. Droppert, D. J. J. Heederik, and I. M. Wouters. 2012. The influence of bedding materials on bio-aerosol exposure in dairy barns. *J. Expos. Sci. Environ. Epidemiol.* 22(4):361-368.
- Sánchez-Monedero, M. A., and E. I. Stentiford. 2003. Generation and dispersion of airborne microorganisms from composting facilities. *Process Saf. Environ. Prot.* 81(3):166-170.
- Sander, I., E. Zahradnik, J. Bogdanovic, M. Raulf-Heimsoth, I. M. Wouters, A. Renström, J. Harris-Roberts, E. Robinson, M. J. Rodrigo, N. Goldscheid, T. Brüning, and G. Doekes. 2007. Optimized methods for fungal α -amylase airborne exposure assessment in bakeries and mills. *Clin. Exp. Allergy* 37(8):1229-1238.
- Schierl, R., A. Heise, U. Egger, F. Schneider, R. Eichelser, S. Nesper, and D. Nowak. 2007. Endotoxin concentration in modern animal houses in Southern Bavaria. *Ann. Agric. Environ. Med.* 14(1):129-136.
- Schinasi, L., R. A. Horton, V. T. Guidry, S. Wing, S. W. Marshall, and K. B. Morland. 2011. Air pollution, lung function, and physical symptoms in communities near concentrated swine feeding operations. *Epidemiology* 22(2):208-215.
- Schmidt, R., and S. Hoy. 1996. Investigations on dust emission from chicken and layer houses. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 109(3):95-100.
- Schulze, A., R. Van Strien, V. Ehrenstein, R. Schierl, H. Küchenhoff, and K. Radon. 2006. Ambient endotoxin level in an area with intensive livestock production. *Ann. Agric. Environ. Med.* 13(1):87-91.
- Schulze, A., H. Römmelt, V. Ehrenstein, R. Van Strien, G. Praml, H. Küchenhoff, D. Nowak, and K. Radon. 2011. Effects on pulmonary health of neighboring residents of concentrated animal feeding operations: Exposure assessed using optimized estimation technique. *Archiv. Environ. Occup. Health* 66(3):146-154.
- Seedorf, J., J. Hartung, M. Schroder, K. H. Linkert, S. Pedersen, H. Takai, J. O. Johnsen, J. H. M. Metz, P. Koerkamp, G. H. Uenk, V. R. Phillips, M. R. Holden, R. W. Sneath, J. L. Short, R. P. White, and C. M. Wathes. 1998a. A survey of ventilation rates in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of Agricultural Engineering Research* 70(1):39-47.
- Seedorf, J., J. Hartung, M. Schröder, K. H. Linkert, V. R. Phillips, M. R. Holden, R. W. Sneath, J. L. Short, R. P. White, S. Pedersen, H. Takai, J. O. Johnsen, J. H. M. Metz, P. W. G. Groot Koerkamp, G. H. Uenk, and C. M. Wathes. 1998b. Concentrations and emissions of airborne endotoxins and microorganisms in livestock buildings in Northern Europe. *Journal of Agricultural Engineering Research* 70(1):97-109.
- Seedorf, J., M. Schröder, and J. Hartung. 1998c. Emissions and immisions of bio-aerosols from a duck fattening unit. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 201(4-5):387-403.
- Seedorf, J., and J. Hartung. 1999. Reduction efficiencies of a biofilter and a bioscrubber for bioaerosols from two different piggeries. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 112(12):444-447.
- Seedorf, J. 2004. An emission inventory of livestock-related bioaerosols for Lower Saxony, Germany. *Atmos. Environ.* 38(38):6565-6581.

- Siggers, J. L., S. P. Kirychuk, S. P. Lemay, and P. J. Willson. 2011. Size distribution of particulate and associated endotoxin and bacteria in traditional swine barn rooms and rooms sprinkled with oil. *J. Agromedicine* 16(4):271-279.
- Simpson, J. C. G., R. M. Niven, C. A. C. Pickering, L. A. Oldham, A. M. Fletcher, and H. C. Francis. 1999. Comparative personal exposures to organic dusts and endotoxin. *Ann. Occup. Hyg.* 43(2):107-115.
- Sleeth, D. K., and J. H. Vincent. 2012. Performance study of personal inhalable aerosol samplers at ultra-low wind speeds. *Ann. Occup. Hyg.* 56(2):207-220.
- Smit, L. A. M., I. M. Wouters, M. M. Hobo, W. Eduard, G. Doekes, and D. Heederik. 2006. Agricultural seed dust as a potential cause of organic dust toxic syndrome. *Occup. Environ. Med.* 63(1):59-67.
- Smit, L. A. M., D. Heederik, G. Doekes, E. J. M. Krop, G. T. Rijkers, and I. M. Wouters. 2009. Ex vivo cytokine release reflects sensitivity to occupational endotoxin exposure. *Eur. Respir. J.* 34(4):795-802.
- Smit, L. A. M., D. Heederik, G. Doekes, J. W. J. Lammers, and I. M. Wouters. 2010. Occupational endotoxin exposure reduces the risk of atopic sensitization but increases the risk of bronchial hyperresponsiveness. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 152(2):151-158.
- Smit, L. A. M., D. Heederik, G. Doekes, G. H. Koppelman, R. W. B. Bottema, D. S. Postma, and I. M. Wouters. 2011. Endotoxin exposure, CD14 and wheeze among farmers: A gene - environment interaction. *Occup. Environ. Med.* 68(11):826-831.
- Spaan, S., I. M. Wouters, I. Oosting, G. Doekes, and D. Heederik. 2006. Exposure to inhalable dust and endotoxins in agricultural industries. *J. Environ. Monit.* 8(1):63-72.
- Spaan, S., D. J. J. Heederik, P. S. Thorne, and I. M. Wouters. 2007. Optimization of an airborne endotoxin exposure assessment: Effects of filter type, transport conditions, extraction solutions, and storage of samples and extracts. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 73(19):6134-6143.
- Spaan, S., J. Schinkel, I. M. Wouters, L. Preller, E. Tielemans, E. T. Nij, and D. Heederik. 2008a. Variability in endotoxin exposure levels and consequences for exposure assessment. *Ann. Occup. Hyg.* 52(5):303-316.
- Spaan, S., L. A. M. Smit, W. Eduard, L. Larsson, H. J. J. M. Arts, I. M. Wouters, and D. J. J. Heederik. 2008 b. Endotoxin exposure in sewage treatment workers: Investigation of exposure variability and comparison of analytical techniques. *Ann. Agric. Environ. Med.* 15(2):251-261.
- Strak, M., N. A. H. Janssen, K. J. Godri, I. Gosens, I. S. Mudway, F. R. Cassee, E. L. ebret, F. J. Kelly, R. M. Harrison, B. Brunekreef, M. Steenhof, and G. Hoek. 2012. Respiratory health effects of airborne particulate matter: The role of particle size, composition, and oxidative potential -the RAPTES project. *Environ. Health Perspect.* 120(8):1183-1189.
- Swan, J. R. M., A. Kelsey, and B. Crook. 2003. *Occupational and environmental exposure to bioaerosols from composts and potential health effects - A critical review of published data*. Research Report 130. Sheffield, UK: Health and Safety Executive (HSE).
- Tager, I. B., F. W. Lurmann, T. Haight, S. Alcorn, B. Penfold, and S. Katharine Hammond. 2010. Temporal and spatial patterns of ambient endotoxin concentrations in Fresno, California. *Environ. Health Perspect.* 118(10):1490-1496.
- Thorne, P. S., S. J. Reynolds, D. K. Milton, P. D. Bloebaum, X. Zhang, P. Whitten, and L. F. Burmeister. 1997. Field evaluation of endotoxin air sampling assay methods. *AM. IND. HYG. ASSOC. J.* 58(11):792-799.
- Thorne, P. S., A. C. Ansley, and S. S. Perry. 2009. Concentrations of bioaerosols, odors, and hydrogen sulfide inside and downwind from two types of swine livestock operations. *J. Occup. Environ. Hyg.* 6(4):211-220.
- Thorne, P. S., S. S. Perry, R. Saito, P. T. O'Shaughnessy, J. Mehafly, N. Metwali, T. Keefe, K. J. Donham, and S. J. Reynolds. 2010. Evaluation of the limulus amoebocyte lysate and recombinant factor C assays for assessment of airborne endotoxins. *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 76(15):4988-4995.
- Todar, K. 2014. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Available at: www.textbookofbacteriology.net. Accessed: March 2014.
- Traversi, D., L. Alessandria, T. Schilirò, and G. Gilli. 2011. Size -fractionated PM10 monitoring in relation to the contribution of endotoxins in different polluted areas. *Atmos. Environ.* 45(21):3515-3521.
- UK-Environment-Agency. 2001. *Monitoring the environmental impact of waste composting plants*. R&D Technical Report P428. Bristol, UK: Environment Agency.
- Velders, G. J. M., J. M. M. Aben, W. F. Blom, J. D. Van Dam, H. E. Elzenga, G. P. Geilenkirchen, P. Hammingh, A. Hoen, B. A. Jimmink, R. B. A. Koelemeijer, J. Matthijsen, C. J. Peek, C. B. W. Schilderman, O. C. van der Sluis, and W. J. de Vries. 2008. *Concentratiekaarten voor grootschalige*

-
- luchtverontreiniging in Nederland, rapport 2008 [Large -scale air quality concentrations maps in the Netherlands, report 2008]*. Report 500088002. Bilthoven, the Netherlands: Milieu - en Natuurplanbureau.
- Verhees, L., and H. Erbrink. 2014. *Effect van tijdsafhankelijke warmte- en stofemissies op de berekende PM10, geur en NH3 concentraties*. Rapport, in voorbereiding. Arnhem, the Netherlands: DNV Kema.
- Visser, M. C., B. Fairchild, M. Czarick, M. Lacy, J. Worley, S. Thompson, J. Kastner, C. Ritz, and L. P. Naeher. 2006. Fine particle measurements inside and outside tunnel -ventilated broiler houses. *J. Appl. Poult. Res.* 15(3):394-405.
- Vogelzang, P. F. J., J. W. J. Van Der Gulden, H. Folgering, D. Heederik, M. J. M. Tielen, and C. P. Van Schayck. 2000. Longitudinal changes in bronchial responsiveness associated with swine confinement dust exposure. *Chest* 117(5):1488-1495.
- Wathes, C. M., M. R. Holden, R. W. Sneath, R. P. White, and V. R. Phillips. 1997. Concentrations and emission rates of aerial ammonia, nitrous oxide, methane, carbon dioxide, dust and endotoxin in UK broiler and layer houses. *Brit. Poult. Sci.* 38(1):14-28.
- Wathes, C. M., V. R. Phillips, M. R. Holden, R. W. Sneath, J. L. Short, R. P. White, J. Hartung, J. Seedorf, M. Schröder, K. H. Linkert, S. Pedersen, H. Takai, J. O. Johnsen, P. W. G. Groot Koerkamp, G. H. Uenk, J. H. M. Metz, T. Hinz, V. Caspary, and S. Linke. 1998. Emissions of aerial pollutants in livestock buildings in Northern Europe: Overview of a multinational project. *Journal of Agricultural Engineering Research* 70(1):3-9.
- Williams, D. L., P. N. Breyse, M. C. McCormack, G. B. Diette, S. McKenzie, and A. S. Geyh. 2011. Airborne cow allergen, ammonia and particulate matter at homes vary with distance to industrial scale dairy operations: An exposure assessment. *Environ. Health Global Access Sci. Sour.* 10(1).
- Winkel, A., J. Mosquera, J. M. G. Hol, G. M. Nijeboer, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2009a. *Fijnstofemissie uit stallen: leghennen in volièrehuisvesting [Dust emission from animal houses: layer hens in aviary systems]*. Report 278. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, R. K. Kwikkel, F. A. Gerrits, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2009b. *Fijnstofemissie uit stallen: vleeskuikens [Dust emission from animal houses: broilers]*. Report 275. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. M. G. Hol, T. G. van Hattum, E. Lovink, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2010a. *Fijnstofemissie uit stallen: biggen [Dust emission from animal houses: piglets]*. Report 293. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. Van Harn, R. A. van Emous, H. H. Ellen, M. Cambra -López, Y. Zhao, F. E. De Buissonjé, P. W. G. Groot-Koerkamp, A. J. A. Aarnink, and N. W. M. Ogink. 2010b. *Grondslagen voor stofarme dierhouderijontwerpen*. Powerpoint document. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, H. H. Ellen, R. A. Van Emous, J. M. G. Hol, G. M. Nijeboer, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2011a. *Fijnstofemissie uit stallen: leghennen in stallen met een droogtunnel [Dust emission from animal houses: laying hens in houses with a tunnel drying system]*. Report 280. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. W. H. Huis in't Veld, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2011b. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit de pluimveehouderij: validatie van een ionisatiesysteem op vleeskuikenbedrijven [Measures to reduce fine dust emission from poultry: validation of an ionization system on broiler farms]*. Report 462. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. W. J. Huis in 't Veld, G. M. Nijeboer, and N. W. M. Ogink. 2011c. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit de pluimveehouderij: validatie van een droogfilterwand op leghennenbedrijven [Measures to reduce fine dust emission from poultry houses: validation of a dry filter wall on layer farms]*. Report 394. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. van Harn, G. M. Nijeboer, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2011d. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit de pluimveehouderij: validatie van een oliefilmsysteem op vleeskuikenbedrijven [Measures to reduce fine dust emission from poultry houses: validation of an oil spraying system on broiler farms]*. Report 392. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., M. M. A. H. H. Smolders, A. J. A. Aarnink, and N. W. M. Ogink. 2011e. *Plan van aanpak voor ontwikkeling van fijnstofreductiemethoden in varkensstallen [Plan of action for development of dust*

- reduction principles inside pig houses*]. Report 395. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, T. G. van Hattum, J. W. H. Huis in't Veld, G. M. Nijeboer, and N. W. M. Ogink. 2012. *Maatregelen ter vermindering van fijnstofemissie uit de pluimveehouderij: validatie van een ionisatiefilter op leghennenbedrijven [Measures to reduce fine dust emission from poultry houses: validation of an ionisation filter on layer farms]*. Report 440. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. W. H. Huis in't Veld, G. M. Nijeboer, H. Schilder, T. G. Van Hattum, H. H. Ellen, and N. W. M. Ogink. 2014a. *Emissies uit mestdroogsysteem op leghennenbedrijven bij dagontmesting en versneld drogen [Emissions from manure drying systems on layer farms using 24-h manure removal and rapid drying]*. Report 731, in draft. Lelystad, the Netherlands: Wageningen University and Research Centre, Livestock Research.
- Winkel, A., J. Mosquera, J. W. Van Riel, P. W. G. Groot-Koerkamp, N. W. M. Ogink, and A. J. A. Aarnink. 2014b. Emissions of particulate matter from animal houses in the Netherlands. *Paper in preparation*.
- Worley, J. W., L. P. Naeher, M. Czarick, B. D. Fairchild, C. W. Ritz, and E. Irvin -Barnwell. 2013. Monitoring of fine particulates downwind of broiler houses -A field study. *J. Appl. Poult. Res.* 22(2):351-360.
- Wouters, I. M., J. Douwes, P. S. Thorne, D. Heederik, and G. Doekes. 2002. Inter- and intraindividual variation of endotoxin- and $\beta(1 \rightarrow 3)$ -glucan-induced cytokine responses in a whole blood assay. *Toxicol. Ind. Health* 18(1):15-27.
- Yang, X., X. Wang, Y. Zhang, J. Lee, J. Su, and R. S. Gates. 2013. Monitoring total endotoxin and $(1 \rightarrow 3)$ -d-glucan at the air exhaust of concentrated animal feeding operations. *J. Air Waste Manage. Assoc.* 63(10):1190-1198.
- Zucker, B. A., and W. Müller. 2000. Investigation on airborne microorganisms in animal stables 3. Report: Relationship between inhalable endotoxin, inhalable dust and airborne bacteria in a hen house. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 113(7-8):279-283.
- 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.
- Zucker, B. A., and W. Müller. 2004a. Airborne endotoxins and airborne gram-negative bacteria in a residential neighborhood. *Water Air Soil Pollut.* 158(1):67-75.
- Zucker, B. A., and W. Müller. 2004b. Investigations on airborne micro-organisms in animal stables: Stability of endotoxins in the environment. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 117(1-2):6-11.
- Zucker, B. A., P. Scharf, C. Kersten, and W. Müller. 2005. Influence of an exhaust air washer on the emission of bioaerosols from a duck fattening unit. *Gefahrstoffe Reinhalt. Luft* 65(9):370-373.

Bijlage A: beknopt protocol ter bepaling van endotoxineconcentraties

Onderstaand protocol geeft een beknopte beschrijving van de methodiek van monsternamen tot bepaling van de endotoxineconcentraties in lucht.

1. Monsternamen middels filtratie

De monsternamen van PM10 is gestandaardiseerd in Europese norm EN 12341 (CEN, 1998). Voor deze monsternamen dient gestandaardiseerde apparatuur toegepast te worden. Bij afwijking hiervan dient de apparatuur gevalideerd te worden ten opzichte van de PM10 referentie sampler.

Het stof dient bemonsterd te worden op glasvezel filters zonder binders. Teflon filters (2,0 micrometer poriëgrootte) mogen ook gebruikt worden maar de extractie-efficiëntie ten opzichte van glasvezelfilters dient gevalideerd te worden.

Monsternamen-apparatuur dient pyrogeenvrij gemaakt te worden voor monsternamen door verhitting (>4 uur bij 160 °C), of door schoonmaken met zeepoplossing gevolgd door spoelen met demiwater en alcohol. Blanco's dienen meegenomen te worden om contaminatie uit te sluiten.

2. Opslag na monsternamen

Filters worden na monsternamen binnen 2 dagen verwerkt, of anderszins bij -20 °C opgeslagen tot extractie.

3. Extractie

Extractie voor endotoxinen dient plaats te vinden volgens de aanbevelingen van de Gezondheidsraad. Dat wil zeggen: filters worden overgebracht in pyrogeenvrije buizen. Hierbij wordt 5–10 ml (afhankelijk van de filterdiameter) pyrogeenvrij water + 0,05% Tween20 toegevoegd, gevolgd door 1 uur schudden bij kamertemperatuur (20 °C). Na centrifugeren gedurende 15 minuten bij 1000xg wordt het supernatant afgepipetteerd en in porties opgeslagen bij -20 °C.

4. Bepalingen endotoxinen middels kinetisch chromogene LAL test

De hoeveelheid endotoxine dient bepaald te worden middels een kinetisch chromogene LAL test, waarbij de assay zonder toevoeging van Tween uitgevoerd dient te worden. Inhibitie en enhancement dient bepaald te worden middels een verdunningstest.

Bijlage B: samenstelling begeleidingscommissie

Anja van Gernerden	Ministerie van Economische Zaken
Arjan Bossenbroek	Gemeente Barneveld, namens VNG
Henk ter Horst	Provincie Gelderland
Herman Litjens	LTO
Edwin Cornelissen	Infomil
Fred Stouthart	Omgevingsdienst Zuidoost-Brabant, namens VNG
Kaj Locher (voorzitter)	Ministerie van Infrastructuur en Milieu
Renske Nijdam	GGD
Rob Scholtens	Provincie Noord-Brabant
Steven van der Lelie	GGD
Wim Kloosterman	Gemeente Zwolle

Bijlage C: samenvatting in vraag en antwoord

1. Welke meetmethoden bestaan er voor endotoxinen? Wat is bekend over meetonzekerheden en foutenbronnen?

Er zijn verschillende meetmethoden voor endotoxine zoals beschreven in hoofdstuk 2. De kinetisch chromogene LAL test wordt het meeste toegepast en wordt aanbevolen in het Europees protocol voor detectie van endotoxine in de werkomgeving. De grootste variatie in vergelijkingen tussen laboratoria bij gebruik van de LAL test ontstaan als gevolg van de monsternamen, extractiemethode en detectiemethode. Door deze aspecten strikt te protocolleren is de endotoxinebepaling voldoende reproduceerbaar.

2. Wat zijn de belangrijkste bronnen van endotoxinen in stallen?

Op basis van de beschikbare gegevens lijken mest en stro(oisel) belangrijke bronnen te zijn van het in stallucht aanwezige endotoxine. De mate van belangrijkheid van bronnen t.a.v. endotoxinen kan verschillend zijn t.o.v. stof. Ook veren, huidschilfers, haren, voeders (mengvoer, ruwvoer) en urine zijn potentiële bronnen van endotoxinen. Over het endotoxinegehalte van deze bronnen zijn geen gegevens bekend.

3. Wat zijn de concentraties van endotoxinen in stallen?

Er is beperkte informatie over concentraties van endotoxinen in stallucht. Een aantal grote studies is uitgevoerd in stallen van varkensbedrijven. Voor andere diersoorten bestaan minder omvangrijke meetseries. De gemiddelde blootstelling voor varkenshouders schommelt rond de 1000–2000 EU/m³. Voor metingen in de melkveehouderij zijn de gemiddelden wat lager, tussen 600 en 1100 EU/m³. Bij pluimveehouders schommelen gemiddelde blootstellingen veelal tussen de 1000 en 10.000 EU/m³. Echter, binnen studies wordt een zeer ruime spreiding in blootstellingsniveaus gevonden. In alle veehouderijen is de blootstelling hoger dan niveaus waarbij ontstekingsreacties van de luchtwegen optreden en hoger dan de gezondheidkundige grenswaarde voorgesteld door de Gezondheidsraad. Metingen nabij het emissiepunt van Nederlandse stallen in het omvangrijke EU-project 'Aerial Pollutants' laten 12-uursgemiddelden zien die uiteenlopen van 52–160 EU/m³ voor melkkoeien en vleeskoeien op roostervloeren, van 201 tot 3651 EU/m³ voor zeugen, biggen en vleesvarkens, en van 200 tot 4693 EU/m³ voor leghennen vleeskuikens. Ook hier gaat het om bandbreedtes van gemiddelden, waarbij de spreiding rond dit gemiddelde aanzienlijk is.

4. Wat is bekend over de relatie tussen endotoxinen en andere componenten van luchtkwaliteit, zoals stof, ammoniak en geur?

Stof- en endotoxineconcentraties in stallucht vertonen een positieve samenhang. Echter, de grote spreidingen in waarnemingen om het verband (en de mogelijk wisselende richtingscoëfficiënten tussen omgevingen) laten niet toe endotoxineconcentraties uit stofconcentraties te voorspellen. Twee studies laten samenhang zien tussen endotoxinen en respectievelijk ammoniak en CO₂. Er zijn geen studies gevonden waarin een relatie met geur is bestudeerd.

5. Komen endotoxinen uitsluitend voor als component van stof of ook als vrije component? In deeltjes van welke grootte komen endotoxinen voor als component van stof? Bestaat er een zodanige verhouding tussen endotoxinen en stof dat endotoxinecijfers (concentraties, emissiefactoren en verwijderingsrendementen) kunnen worden afgeleid van bestaande cijfers t.a.v. stof? Zijn er verschillen in deze verhoudingen tussen diersoorten of huisvestingssystemen? Hoe groot is dit verschil of vanaf welke waarde is er sprake van een acceptabele fout?

Endotoxinen komen veelal gebonden aan stof voor, maar kunnen ook als vrije component voorkomen. In de veehouderij komt naar verwachting de stofgebonden component het meest voor. Er is

onvoldoende informatie over de hoeveelheid stof en het endotoxinegehalte om hiermee uitspraken te doen over emissies van endotoxine, of effectiviteit van reducerende maatregelen. Het endotoxinegehalte van stof varieert sterk. Naar alle waarschijnlijkheid wordt dit door een deel verklaard door variatie in bacteriële groei, wisselende bijdragen van bronnen van endotoxine houdend stof in de stal (mest, veren, huidschilfers, strooisel, voeder) en heterogeniteit van het stof.

6. Wat zijn de emissieniveaus van endotoxinen uit stallen? Welke diercategorieën of stalsystemen dragen belangrijk bij aan de emissie van endotoxinen?

Er zijn slechts enkele emissiestudies naar endotoxinen uitgevoerd. Emissieniveaus lopen uiteen van enkele tientallen EU/uur per dier voor melkkoeien tot enkele honderden EU/uur per dier voor varkens en enkele duizenden EU/uur per dier voor pluimvee. De spreiding rondom deze gemiddelde niveaus is groot, zowel tussen als binnen bedrijven.

7. Welke processen en factoren beïnvloeden de concentraties en emissies van endotoxinen in stallen? Wat zijn de temporale variaties t.g.v. bijvoorbeeld dag/nacht, dieractiviteit, seizoen, ventilatieniveau of leeftijdsfase van de dieren? Zijn er bijzonderheden te vermelden t.a.v. bepaalde gebeurtenissen of situaties? Is het nodig dit te onderzoeken?

Voor fijn stof is bekend dat concentraties en emissies overdag hoger zijn dan 's nachts (t.g.v. verhoogde dieractiviteit en ventilatiebehoefte), zomers hoger dan 's winters (door een hogere ventilatiebehoefte) en toenemen met de leeftijd van groeiende dieren. Deze relaties gelden vermoedelijk ook voor endotoxine.

8. Wat is bekend over endotoxine-reducerende maatregelen, waaronder diverse typen luchtwassers? Kan bij emissiereducerende maatregelen de verhouding tussen fijnstofemissie en endotoxinenemissie één op één worden meegenomen?

Er zijn slechts enkele studies voorhanden waarin de verwijdering van endotoxine door een emissiereductietechniek is vastgesteld. Veel kennis is aanwezig t.a.v. fijnstofreductietechnieken. Echter, verwijderingsrendementen van deze technieken voor PM10 kunnen niet één op één worden toegepast op endotoxinen omdat reductietechnieken deeltjes van verschillende grootte met een verschillende efficiëntie verwijderen en aanwijzingen bestaan dat endotoxinen ongelijk verdeeld zijn over deze verschillende deeltjesgrootteklassen.

9. Wat is bekend over endotoxine-emissies bij mestbehandeling en mesttoediening?

Er is zeer weinig bekend over endotoxine-emissies bij mestbehandeling. Emissies kunnen optreden bij mestopslag en mestoverslag en bij de mestbehandelingsprocessen: composteren, drogen/indikken, nitrificatie/denitrificatie, strippen en de teelt van algen/kroos. Voor het kunnen vaststellen van emissies uit deze processen is een verdere ontwikkeling van meetmethoden vereist. T.a.v. de aanwending van mest op land bestaan aanwijzingen dat emissies van endotoxinen kunnen optreden bij het uitwerpen van vaste mest en in enige mate bij het op de bodem aanbrengen van drijfmest. Onbekend is of emissies optreden bij het uitwerpen of injecteren van drijfmest. Emissies kunnen tevens afkomstig zijn uit de bodem wanneer bodemdeeltjes in de lucht worden gebracht door de landbouwvoertuigen. Met aanwending van mest op land wordt een product in het milieu gebracht dat rijk is aan micro-organismen en endotoxinen. Veel is nog onbekend over de overleving en verspreiding van fecale micro-organismen in bodems, hun afbraak tot endotoxinen, de stabiliteit van endotoxinen in de bodem, grondwater en oppervlaktewater, de mogelijke verwaaiing van endotoxinen vanuit bemeste bodems en gewassen, en de eventuele gezondheidsrisico's die daarbij kunnen ontstaan.

10. Wat zijn de achtergrondconcentraties van endotoxinen in de buitenlucht?

In het algemeen geldt dat niveaus van achtergrondconcentraties van endotoxine in de buitenlucht in samenhang gezien moeten worden met de monsternamemethode, de middelingsduur van de meting en de bepalingmethode. Het is dan ook niet mogelijk een eenduidige waarde voor het achtergrondniveau te rapporteren. Verwacht wordt dat achtergrondconcentraties maximaal 1–2 EU/m³ zullen bedragen bij kortere middelingsduren van maximaal acht uur.

11. Welke concentraties endotoxinen worden rondom veehouderijen op welke afstanden gemeten? Hoe verhouden deze concentraties zich tot de door de Gezondheidsraad genoemde norm van 30 EU/m³? Wat is op grond van de thans beschikbare informatie de kans op daadwerkelijke overschrijding van deze norm? Wanneer of in welke situaties is deze kans het grootst?

Er is slechts een beperkt aantal studies die informatie over endotoxineniveaus rond veehouderijen geven. In de recente studie naar mogelijke effecten van intensieve veehouderij en gezondheid (Heederik & IJzermans, 2011) worden benedenwinds hogere endotoxineconcentraties gevonden dan bovenwinds. Bij nertsenbedrijven zijn de laagste endotoxineconcentraties gevonden, het maximale niveau lag ruim onder de 10 EU/m³. De hoogste niveaus zijn gevonden rond pluimveebedrijven met de hoogste niveaus rond 50 EU/m³ op een afstand van 30 meter van het bedrijf. Omdat het een beperkt aantal metingen betreft kunnen geen uitspreken worden gedaan over lange -termijngemiddelden en spreidingen of het percentage metingen boven de grenswaarde die door de Gezondheidsraad is vastgesteld. Het is evident dat deze studie wel overschrijding van de voorgestelde grenswaarde op korte afstand van bedrijven laat zien. Andere studies laten een vergelijkbaar beeld zien, maar ook voor deze studies geldt dat de meetseries beperkt van omvang zijn. Amerikaanse studies laten hogere concentraties zien, maar de omstandigheden waaronder dieren worden gehouden in de Verenigde Staten verschillen sterk van de Nederlandse situatie.

12. Welke gezondheidseffecten kunnen endotoxinen uit stallen bij omwonenden veroorzaken?

In de werkomgeving worden bij verhoogde blootstelling aan endotoxinen (>90 EU/m³) acute effecten op de luchtwegen waargenomen (hoesten, benauwdheid, astmatische klachten en acute longfunctieveranderingen). Op de langere termijn is een versnelde longfunctiedaling bij werknemers met hoge blootstelling te verwachten die zullen leiden tot niet allergische astma of COPD. Er zijn maar enkele studies in populaties rond veehouderijbedrijven uitgevoerd. Deze studies suggereren dat voorgenoemde acute effecten inderdaad op kunnen treden. Echter, de beschikbare informatie wordt als te beperkt gezien als aanwijzing voor een causale relatie tussen blootstelling aan endotoxine afkomstig van veehouderijen en de effecten bij omwonenden. Zo is er geen blootstellings -respons relatie beschreven in populaties omwonenden.

13. Wat is bekend over de verspreidingspatronen van endotoxinen; hoe verspreiden ze zich? Zijn er parallellen met (fijn)stof, geur of ammoniak?

Endotoxinen verspreiden zich op een vergelijkbare manier als stofdeeltjes, aangezien endotoxinen onderdeel vormen van deze stofdeeltjes. De verspreiding van endotoxine is stoffractie -gebonden. Er zijn duidelijke aanwijzingen dat het endotoxinegehalte in de grotere stofdeeltjes (>2 -3 µm) hoger is dan in de kleinere deeltjes (<2 -3 µm). Hiermee dient in de modellering rekening te worden gehouden. Het huidige model voor PM10 dat gebruikt wordt bij vergunningverlening bevat niet de eveneens voor endotoxine uitstoot mogelijk relevante grotere stoffracties. De vraag die daarbij overigens gesteld kan worden is of deze grotere deeltjes in de praktijk daadwerkelijk van belang zijn voor de endotoxine -concentraties op belaste omgevingspunten. Verwacht mag worden dat grotere deeltjes (>PM10) veel sneller sedimenteren (neerslaan) op korte afstand van het emissiepunt. Aanbevolen wordt deze sedimentatie-effecten in een aantal representatieve voorbeeldsituaties door te rekenen, en op basis van de bijdrage van grotere deeltjes aan belaste punten te besluiten of deze fractie in het toetsingskader moet worden meegenomen.

14. Welke ervaringen zijn er tot nu toe in andere landen opgedaan met verspreidingsmodellen voor endotoxinen?

Er zijn in andere landen geen directe ervaringen met verspreidingsmodellen voor endotoxinen. In het Verenigd Koninkrijk bestaat regelgeving voor emissies van bioaerosolen uit composteerinrichtingen maar hierin wordt geen gebruik gemaakt van verspreidingsmodellen. In delen van Duitsland bestaat regelgeving voor emissies van bioaerosolen uit dierhuisvesting. Hier wordt bij de risico -inschatting gebruik gemaakt van verspreidingsmodellen.

15. Welke relevante verspreidingsmodellen bestaan er? Welk verspreidingsmodel zou kunnen worden gebruikt voor endotoxinen, mede gezien de modellen die vergunningverleners nu gebruiken voor o.a. fijn stof? Is het logisch om gebruik te maken van ISL3a en welke kanttekeningen zijn eventueel te plaatsen bij ISL3a en alternatieven? Hoe kunnen endotoxinen in een verspreidingsmodel worden ingevoerd?

Er zou gebruik gemaakt kunnen worden van het ISL3a voor verspreiding van PM10. Hierbij moet echter wel met de voor endotoxinebelasting relevante middelingstijden rekening worden gehouden (8 uur i.p.v. 24-uurs gemiddelden). Daarnaast is de verspreiding van endotoxine stoffractie-gebonden (zie vraag 13). Duidelijk is in ieder geval dat het huidige vergunningsmodel voor PM10-verspreiding (ISL3a) in deze vorm niet één op één geschikt is voor de berekening van endotoxine-belasting. Voortbordurend op de huidige werkwijze van ISL3a ligt het voor de hand een aanvullende modelvariant te ontwikkelen waarin de voor de endotoxine-belasting relevante parameters worden opgenomen. Bij een dergelijke ontwikkeling is het tevens gewenst aandacht te besteden aan een aantal knelpunten die in de huidige uitvoeringspraktijk zijn gesignaleerd. Het gaat hierbij met name om de modellering van stallen met horizontale uitstroming van ventilatielucht en het meenemen van de variabiliteit in uitstoot in de berekening van percentielwaarden.

16. Is ten aanzien van stallen variatie in de tijd van belang als een emissie per dier per jaar wordt weergegeven? Is het nodig een emissiefactor per dier per dag af te leiden?

Variatie in de tijd lijkt voor endotoxine nog belangrijker te zijn dan voor fijn stof. Endotoxine concentraties kunnen sterk variëren in de tijd. Meer inzicht is nodig naar gemiddelde concentratie - en emissieniveaus van endotoxinen, maar tevens naar de variaties hierin. Dit is nodig om goe de grenswaarden en aantal overschrijdingen van deze grenswaarden te kunnen vaststellen.

17. Speelt achtergrondbelasting een rol t.a.v. eventuele verspreidingsmodellen voor endotoxinen?

De achtergrondconcentratie, gemeten over een relatief korte periode van bijvoorbeeld 8 uur, zal gemiddeld tussen de 1 en 2 EU/m³ liggen en maar beperkt bijdragen aan de blootstelling die het gevolg kan zijn van emissies vanuit een veehouderijbedrijf.

18. Welke ervaringen zijn er tot nu toe in andere landen opgedaan met berekeningssystematieken voor endotoxinen en de daaraan verbonden voorschriften (6.2)?

Er bestaat in andere landen geen ervaring met berekeningssystematieken voor endotoxinen en de daaraan verbonden voorschriften. Wel zijn in meerdere landen benaderingen in ontwikkeling om emissies van micro-organismen vanuit veehouderijen of composteringinstallaties te beoordelen. Deze zijn deels tot regelgeving uitgewerkt.

19. Hoe moet het toetsingskader er bij vergunningverlening respectievelijk Activiteitenbesluit uitzien? Is het mogelijk om gebruik te maken van bestaande toetsingskaders? Welke parameters zijn relevant voor dit toetsingskader?

Een belangrijke vraag is of de huidige toetsingskaders voor geur en fijn stof niet reeds in voldoende mate bescherming bieden tegen te hoge endotoxine-niveaus. Met de huidige kennis kunnen hierover geen gedetailleerde uitspraken worden gedaan. Oriënterende berekeningen (niet opgenomen in deze rapportage) met aangenomen verhoudingen tussen endotoxine en PM10-concentraties in stallucht suggereren echter wel dat met name voor pluimveecategorieën de PM10-regulering waarschijnlijk niet afdoende is om onder de grenswaarde voor endotoxine te blijven. Te kiezen percentielwaardes voor de endotoxine-norm en middelingstijden spelen hierbij overigens een belangrijke rol. Op basis van de huidige informatie is het naar ons inzicht zinvol het endotoxine-instrument verder te ontwikkelen. Het ligt voor de hand de aanpak binnen de toetsingskaders voor geur en fijn stof in de veehouderij als uitgangspunt voor de ontwikkeling van het endotoxine-toetsingskader te nemen. Niet alleen wordt hiermee de instrumentele nauwkeurigheid door het gebruik van lokale verspreidingsfactoren ondersteund, maar kan bovendien aangesloten worden op een bestaande infrastructuur in de vergunnings- en beoordelingspraktijk en de hierin opgedane ervaringen. Voor de uitwerking van een toetsingskader voor endotoxinen zijn de volgende vier hoofdcomponenten van belang.

1. Emissiefactoren: vaststelling van de bronsterkte
2. Verspreidingsmodel: schatting van de verspreiding naar het toetsingspunt

3. Grenswaarden: definitie kritieke niveau voor de omgevingsbelasting

4. Validatie van het toetsingsinstrument

Ad 1. Momenteel zijn er nog onvoldoende gegevens beschikbaar als basis voor endotoxine-emissiefactoren voor de afzonderlijke diercategorieën.

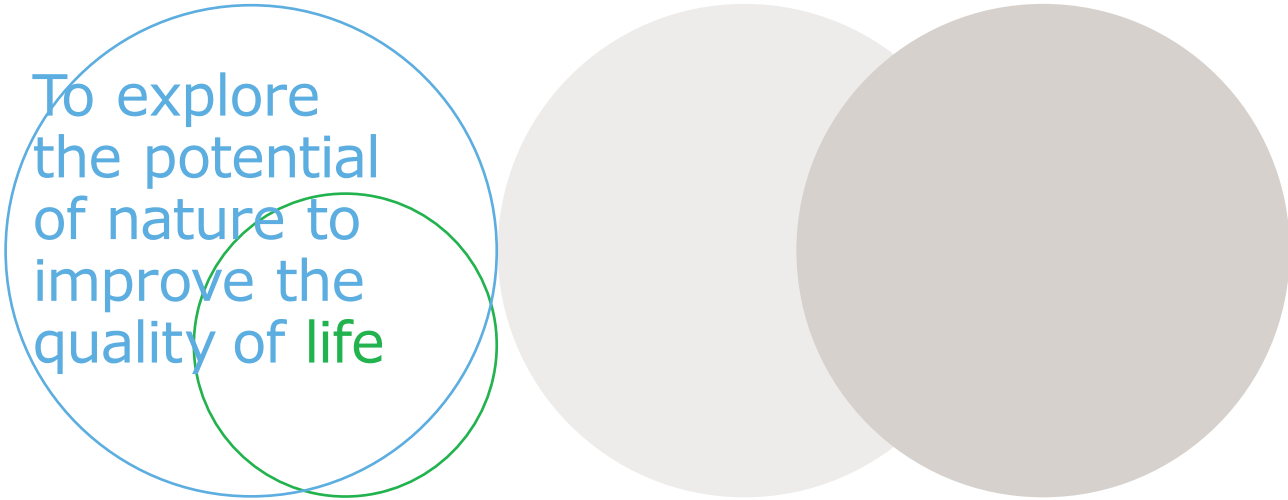
Ad 2. Het huidige model voor PM10 dat gebruikt wordt bij vergunningverlening bevat niet de eveneens voor endotoxine uitstoot mogelijk relevante grotere stoffracties. Aanbevolen wordt om via een aantal representatieve voorbeeldsituaties door te rekenen of de grotere deeltjes (>PM10) van belang zijn voor verspreiding van endotoxinen of dat ze snel na uitstoot sedimenteren. Op basis van de bijdrage van grotere deeltjes aan belaste punten zal besloten kunnen worden of deze fractie in het toetsingskader moet worden meegenomen.

Ad 3. De wijze waarop de grenswaarde wordt gedefinieerd dient nader uitgewerkt te worden, met name de keuze voor de te hanteren percentielwaarde (maat voor de hoeveelheid overschrijdingstijd) is hier van belang.

Ad 4. Aanbevolen wordt de voorspellende waarde van het ontwikkelde model te toetsen in een onderzoek waarin gemeten endotoxine-emissies van praktijkstallen en concentratieniveaus in de omgeving worden vergeleken met de voorspelde waarden.

20. Is het logisch een norm voor endotoxinen een jaargemiddelde norm te laten zijn en/of een daggemiddelde norm?

Gezien de onderbouwing van het voorstel voor een grenswaarde van de Gezondheidsraad (acute effecten) is het voor de hand liggend om een 8-uursgemiddelde norm als uitgangspunt te nemen voor een te ontwikkelen toetsingskader.



To explore
the potential
of nature to
improve the
quality of life

Wageningen UR Livestock Research
Postbus 338
6700 AH Wageningen
T 0317 480 10 77
E info.livestockresearch@wur.nl
www.wageningenUR.nl/livestockresearch

Livestock Research Rapport 773



Wageningen UR Livestock Research ontwikkelt kennis voor een zorgvuldige en renderende veehouderij, vertaalt deze naar praktijkgerichte oplossingen en innovaties, en zorgt voor doorstroming van deze kennis. Onze wetenschappelijke kennis op het gebied van veehouderijsystemen en van voeding, genetica, welzijn en milieu-impact van landbouwhuisdieren integreren we, samen met onze klanten, tot veehouderijconcepten voor de 21e eeuw.

De missie van Wageningen UR (University & Research centre) is 'To explore the potential of nature to improve the quality of life'. Binnen Wageningen UR bundelen 9 gespecialiseerde onderzoeksinstituten van stichting DLO en Wageningen University hun krachten om bij te dragen aan de oplossing van belangrijke vragen in het domein van gezonde voeding en leefomgeving. Met ongeveer 30 vestigingen, 6.000 medewerkers en 9.000 studenten behoort Wageningen UR wereldwijd tot de aansprekende kennisinstellingen binnen haar domein. De integrale benadering van de vraagstukken en de samenwerking tussen verschillende disciplines vormen het hart van de unieke Wageningen aanpak.
