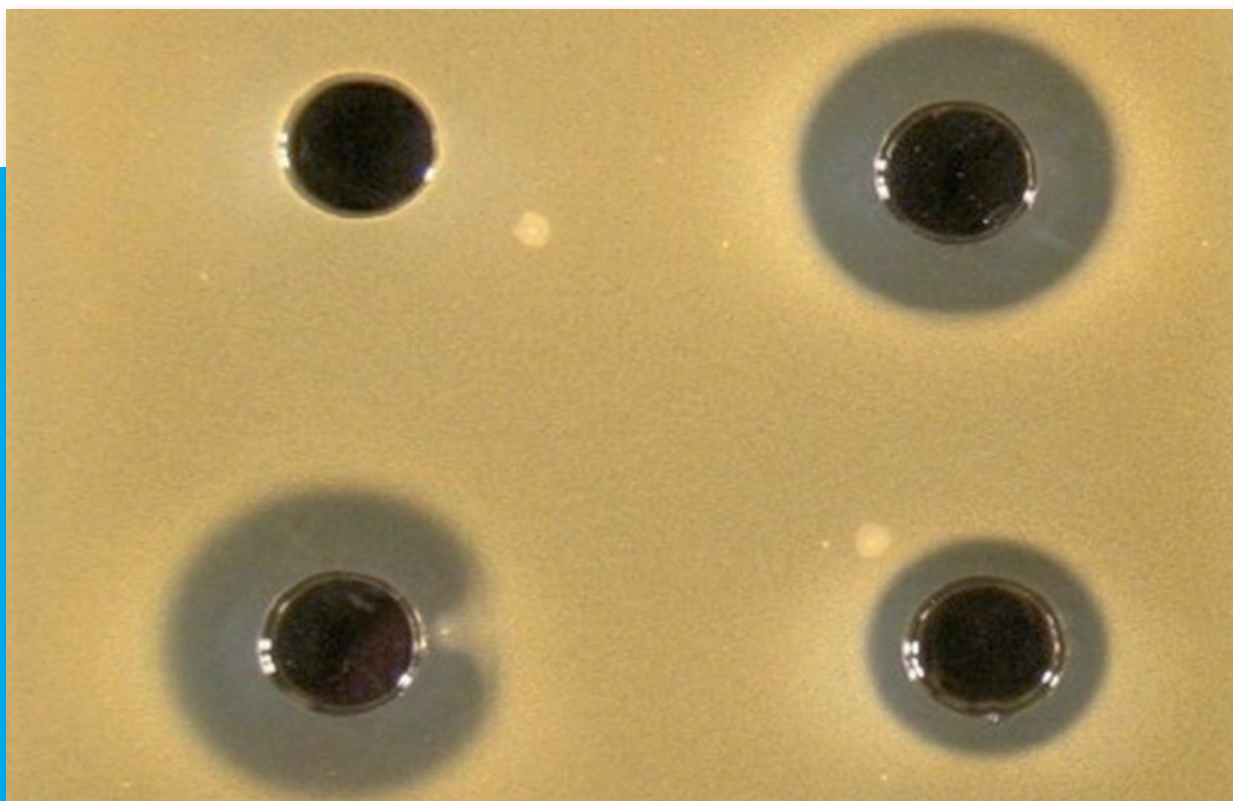




Vereniging van
Rijnwaterbedrijven

Analyserapport Antibiotica Screening Rijn

*Analyseresultaten van antibiotica screening
van Lobith en Nieuwegein in 2012*



Barry Pieters, Grontmij
Stefan Kools, Grontmij

Samenvatting

In Nederland worden grote hoeveelheden antibiotica gebruikt. Toch is relatief weinig bekend van het voorkomen en de verspreiding van antibiotica in oppervlaktewater. Daarom heeft RIWA-Rijn aan Grontmij B.V. verzocht om watermonsters te Lobith en Nieuwegein gedurende 2012 maandelijks te screenen op de aanwezigheid van antibiotica-activiteit van verschillende antibioticaklassen.

Uit de huidige studie kunnen de volgende algemene conclusies getrokken worden:

- Voor de Tetracyclinen en Quinolonen is geen antibiotica-activiteit waargenomen. Activiteit van Macroliden/ β -lactam is altijd aangetoond op beide monsterlocaties. Ook activiteit van Sulfonamiden is frequent aangetoond op beide monsterlocaties. Antibiotica-activiteit van de Aminoglycosiden is veel minder frequent aangetoond op beide monsterlocaties, en dan alleen tussen februari - april.
- Voor geen van de klassen antibiotica zijn eenduidige trends waar te nemen, hoewel de afvoer bij Lobith invloed lijkt te hebben op het voorkomen van antibiotica-activiteit. De aangetroffen variatie kan echter niet gerelateerd worden aan informatie van de bovenstroomse brontypen en seizoensafhankelijke emissies, omdat daarover geen informatie beschikbaar is.
- De resultaten uit de huidige studie komen over het algemeen goed overeen met eerdere studies naar antibiotica-activiteit van antibioticaklassen in oppervlaktewater. Hoewel de gebruikte methode niet kwantitatief is, mag worden aangenomen dat de aangetroffen waarden voor de Tetracyclinen en Quinolonen geen bedreiging vormen voor de drinkwatersector. Echter, voor de Sulfonamiden, Macroliden/ β -lactam en mogelijk Aminoglycosiden kan niet uitgesloten worden dat concentraties van antibiotica aanwezig zijn boven de DMR-streefwaarde van $0.1 \mu\text{g/l}$. Het verdient daarom aanbeveling om voor de bovengenoemde 3 antibioticaklassen een aanvullende chemische monitoring uit te voeren.

Colofon

Uitvoering Drs. E. Burger, Dr. Barry Pieters, Dr. Stefan Kools, Grontmij Nederland B.V. Amsterdam
Auteur(s) Barry Pieters, Stefan Kools, Grontmij Nederland B.V. Amsterdam



Uitgever RIWA-Rijn, Vereniging van Rivierwaterbedrijven

Vormgeving Meyson Communicatie, Amsterdam

ISBN/EAN 978-90-6683-154-4

Alles uit deze publicatie mag worden overgenomen met duidelijke bronvermelding. Voor het gebruik van foto's vragen wij u contact op te nemen met de auteur(s).

Dit rapport is gratis te downloaden via de website www.riwa.org. Desgevraagd kan het worden geprint na bestelling via riwa@riwa.org ("printing on demand"). Voor de kosten hiervan wordt verwezen naar onze website.

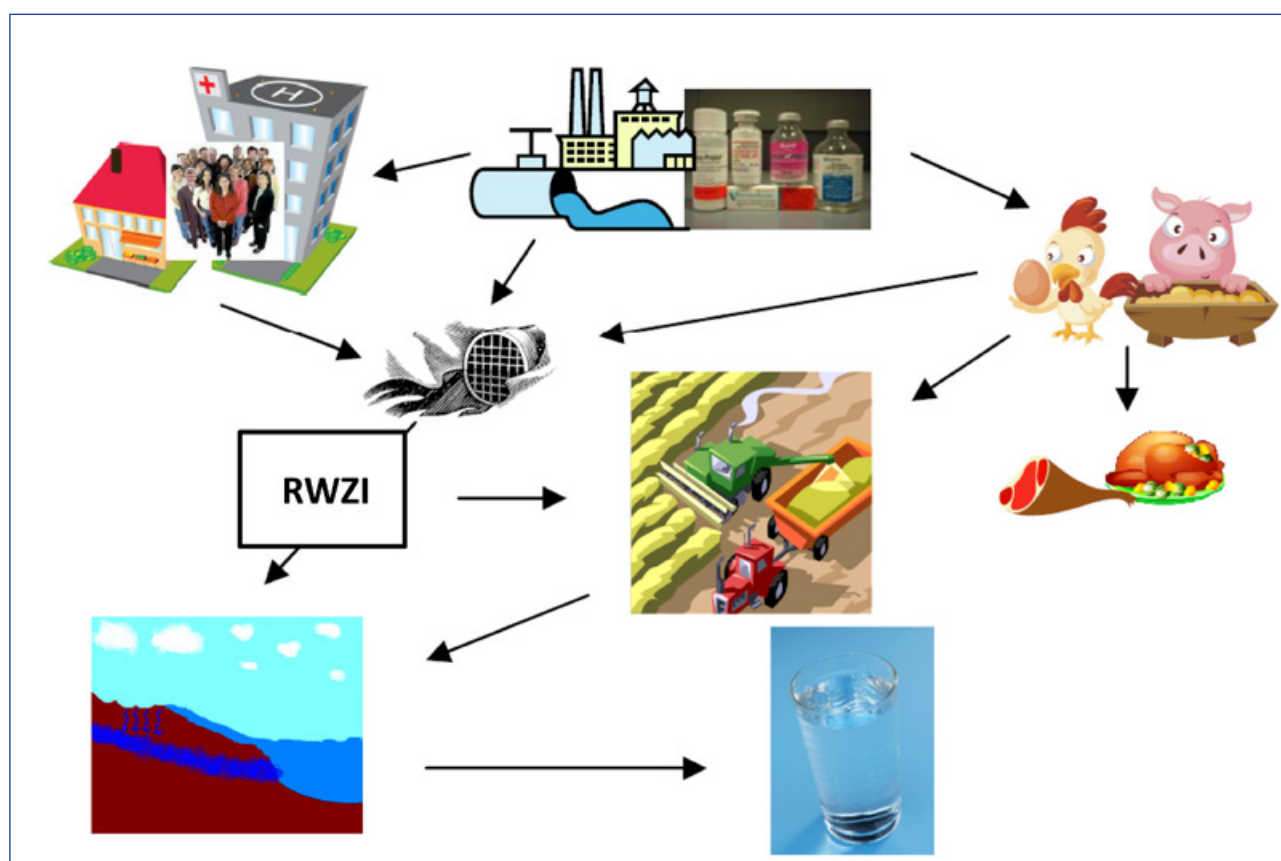
Inhoudsopgave

1. Inleiding	5
1.1 Achtergrond	5
1.2 Doelstelling	6
2. Methode	7
2.1 Werkwijze	7
2.2 Monsterlocaties	7
2.3 Monsterextractie	8
2.4 Antibiotica screening assay	8
2.4.1 Procedure test	8
2.4.2 Positieve en negatieve controle	9
2.4.3 Uitwerking resultaten	9
3. Resultaten	10
4. Discussie	21
4.1 Resultaten antibiotica-activiteit	21
4.1.1 Controles testen	21
4.1.2 Antibiotica-activiteit	21
4.2 Trends in de tijd	21
4.2.1 Lobith	21
4.2.2 Nieuwegein	23
4.3 Antibiotica gebruik in Nederland en voorkomen in oppervlaktewater	23
4.3.1 Antibiotica gebruik in Nederland	23
4.3.2 Voorkomen antibiotica in oppervlaktewater	23
4.4 Vergelijking met eerdere studies naar antibiotica-activiteit	25
5. Conclusies en aanbevelingen	26
5.1 Algemene conclusies	26
5.2 Aanbevelingen	26
6. Referenties	27
Bijlage 1 Op SPE-kolom gebrachte volumes watermonsters	28
Bijlage 2 Foto's agarplaten antibioticaklassen na 16 uur incubatie	29
Bijlage 3 Humane antibiotica en indeling antibioticaklassen	39

Inleiding

1.1 Achtergrond

Antibiotica zijn geneesmiddelen met een antibacteriële werking die in aanzienlijke hoeveelheden worden gebruikt in zowel de veeteelt als de humane geneeskunde. Na inname bij mensen wordt een gedeelte van het antibioticum onveranderd uitgescheiden via hoofdzakelijk urine, waarna antibiotica via de communale riolering en RWZI's het oppervlaktewater kunnen bereiken. Veterinaire antibiotica kunnen het oppervlaktewater bereiken doordat mest af- en uitspoelt van veeteeltgebieden. Een schematisch overzicht van de emissieroutes naar het aquatisch milieu is gegeven in figuur 1. Het is bekend dat de gebruikte hoeveelheden antibiotica in Nederland groot zijn, bijvoorbeeld 590 ton veterinaire antibiotica in 2007 (Geofox-Lexmond, 2009). Toch is relatief weinig bekend van het voorkomen en de verspreiding van antibiotica in oppervlaktewater. Antibiotica in oppervlaktewater veroorzaken zorg omdat het mogelijk risico's met zich mee kan brengen voor ecologie (W. Rademaker en M. de Lange, 2009) en mens (RIVM, 2010). Van Erytromycine is bijvoorbeeld bekend dat het de populatiedichtheid van cyanobacteriën kan reduceren (Pomati et al, 2004). Naast ecotoxicologische effecten is ook de toename van bacteriële resistentie tegen antibiotica een indicatie voor mogelijke milieueffecten en een risico voor de volksgezondheid (Costanza et al., 2004).



Figuur 1: Schematisch overzicht van de emissieroutes van humane en veterinaire geneesmiddelen.

1.2 Doelstelling

Voor de inname van drinkwater is de aanwezigheid van antibiotica in oppervlaktewater ongewenst vanuit het oogpunt van 'schoon' drinkwater. RIWA-Rijn, de vereniging van (nederlandse) waterleidingbedrijven die oppervlaktewater uit het Rijnstroomgebied gebruiken voor drinkwaterproductie, heeft Grontmij B.V. daarom gevraagd om watermonsters te screenen op de aanwezigheid van antibiotica-activiteit van verschillende antibioticaklassen. Deze rapportage bevat de analyseresultaten van de antibiotica-screeningstest die uitgevoerd is op 26 oppervlaktewatermonsters die vierwekelijks zijn genomen bij de locaties Lobith en Nieuwegein in 2012. Centrale vragen waarop de huidige rapportage een antwoord probeert te geven zijn:

- Van welke antibioticaklassen is activiteit in de onderzochte oppervlaktewater monsters waar te nemen?
- Zijn er trends in antibiotica-activiteit in de tijd waar te nemen en welke factoren hebben mogelijk invloed?
- Welke antibiotica zijn mogelijk verantwoordelijk voor de waargenomen antibiotica-activiteit en wat zijn hun mogelijke bronnen?
- Hoe verhoudt waargenomen antibiotica-activiteit in de huidige rapportage zich met eerdere studies naar antibiotica-activiteit op de monsterlocaties?

Methode

2

2.1 Werkwijze

Per monsterlocatie is 2 x 1 liter oppervlaktewater aangeleverd aan Grontmij in groene flessen. De monsters betreffen steekmonsters en zijn gekoeld en donker getransporteerd.

2.2 Monsterlocaties

In tabel 1 is een overzicht gegeven van de monsterlocaties, data van monstername, extractiedata en analysedata van de uitvoering van de antibiotica screening assays.

Tabel 1: Overzicht van de monstergegevens

Ecolimsnummer	Monsternamedatum	Aanleverdatum	Extractiedatum	Analysedatum
800324	Lobith	11-01-2012	12-01-2012	22-03-2012
800325	Nieuwegein	11-01-2012	12-01-2012	22-03-2012
800326	Lobith	08-02-2012	09-02-2012	22-03-2012
800327	Nieuwegein	08-02-2012	09-02-2012	22-03-2012
800328	Nieuwegein	07-03-2012	08-03-2012	22-03-2012
800329	Lobith	07-03-2012	08-03-2012	22-03-2012
800330	Lobith	04-04-2012	05-04-2012	07-06-2012
800331	Nieuwegein	04-04-2012	05-04-2012	07-06-2012
800332	Lobith	02-05-2012	03-05-2012	07-06-2012
800333	Nieuwegein	02-05-2012	03-05-2012	07-06-2012
800334	Lobith	30-05-2012	31-05-2012	07-06-2012
800335	Nieuwegein	30-05-2012	31-05-2012	07-06-2012
800350	Lobith	27-06-2012	28-06-2012	24-08-2012
800351	Nieuwegein	27-06-2012	28-06-2012	24-08-2012
800354	Lobith	25-07-2012	26-07-2012	24-08-2012
800355	Nieuwegein	25-07-2012	26-07-2012	24-08-2012
800368	Lobith	22-08-2012	23-08-2012	24-08-2012
800369	Nieuwegein	22-08-2012	23-08-2012	24-08-2012
800370	Lobith	19-09-2012	20-09-2012	23-11-2012
800371	Nieuwegein	19-09-2012	20-09-2012	23-11-2012
800382	Lobith	17-10-2012	18-10-2012	23-11-2012
800383	Nieuwegein	17-10-2012	18-10-2012	23-11-2012
800397	Lobith	14-11-2012	15-11-2012	23-11-2012
800398	Nieuwegein	14-11-2012	15-11-2012	23-11-2012
800430	Nieuwegein	12-12-2012	13-12-2012	31-02-2013
800431	Lobith	12-12-2012	13-12-2012	31-02-2013

2.3 Monsterextractie

De monsteropwerking vindt plaats door middel van Solid Phase Extractie (SPE) en bestaat uit de volgende vijf stappen:

1. Conditionering
2. Adsorptie
3. Drogen
4. Desorptie
5. Indampen (=concentreren methanol extract)

Door middel van vaste fase extractie (SPE) over OASIS HLB 6cc (500mg) LP Extractie kolommen is het monster ca. 1000x geconcentreerd tot 0,792g methanol (=dichtheid van methanol is 0,792g/ml bij 20°C). Per locatie is ca. 1 L watermonster op de SPE-kolom gebracht, de tweede monsterfles dient als reserve (zie Bijlage 1). Bij iedere serie monsters die geëxtraheerd wordt, loopt ook minimaal één procedureblanco mee. Als procedure blanco wordt ca. 1L demiwater gebruikt. Tot het moment van analyse (tabel 1) zijn de extracten van de monsters en procedure blanco's in de koeling bewaard.

2.4 Antibiotica screening assay

De antibiotica screeningtest wordt uitgevoerd met behulp van de RIKILT Water-Scan test. De Water-Scan test is aangeleverd door het RIKILT, Institute of Food Safety, Wageningen Universiteit. Na aanlevering op het laboratorium zijn de agarplaten direct bij 3-4°C in de koelkast gezet tot gebruik, maximaal 2 dagen later.

2.4.1 Procedure test

De test bestaat uit 5 verschillende agarplaten met (ongevaarlijke) bacteriestammen die gevoelig zijn voor specifieke antibiotica klassen (Tetracyclines, Quinolonen, Sulfonamiden, Macroliden/B-lactam en Aminoglycosiden). In de platen zijn negen uitsparingen ("wells") aangebracht, waarin de te onderzoeken monsters (extracten) gepipetteerd kunnen worden. De vijf testplaten voor de detectie van antibiotica-activiteit water bevatten 1 of 2 positieve controles:

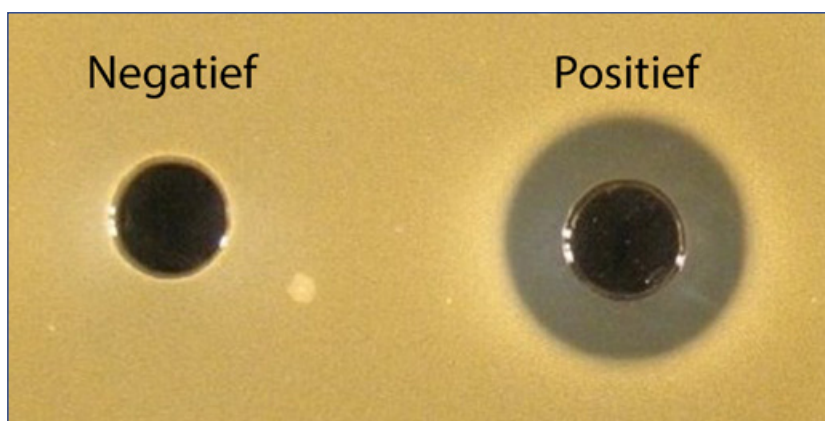
1. **Tetracycline Groepstest:** 100 µg/l Oxytetracycline; zoals Doxycycline, Oxytetracycline
2. **Quinolonen Groepstest:** 200 µg/l Flumequine; zoals Flumequine, Enrofloxacin.
3. **Macroliden/B-lactam Groepstest:** 100 µg/l Erythromycine en/of 15 µg/l Penicilline: zoals Tylosine, Lincomycine, Amoxicilline.
4. **Sulfonamiden Groepstest:** 100 µg/l Sulfamethoxazole; zoals Sulfadiazine, Sulfamethoxazole.
5. **Aminoglycosiden Groepstest:** 100 µg/l Neomycine; zoals Neomycine.

De methanolextracten van de te onderzoeken monsters en de procedureblanco's worden 1:1 verdund met demiwater alvorens ze op plaat gebracht worden. Hiertoe wordt 750µl van het methanol extract verdund met 750µl demiwater. Van de verdunde extracten wordt op elke plaat van de Water-Scan test 250µl in één van de uitsparingen in de agar gepipetteerd. Per plaat worden in totaal 5 monsters, een procedureblanco, een oplosmiddelblanco (=negatieve blanco) en twee positieve blanco's opgebracht.

- De oplosmiddelblanco is methanol dat 1:1 verdund is met demiwater.
- De positieve controles worden door het RIKILT bij de platen meegeleverd en dienen om de gevoeligheid van de plaat te controleren. Iedere plaat heeft zijn eigen positieve controlemonster(s).
- Van de negatieve- en positieve blanco's wordt eveneens 250µl in één van de uitsparingen in de agar gepipetteerd.

Na het pipetteren van de monsters en controles op de platen wordt 1 druppel van de bijbehorende opdruppelvloeistof in elke uitsparing gebracht. Iedere plaat heeft zijn eigen specifieke opdruppelvloeistof en wordt door het RIKILT meegeleverd. De platen worden vervolgens gedurende 24 uur bij de door RIKILT voorgeschreven temperatuur (30°C of 37°C) geïncubeerd. Gedurende deze periode diffunderen de vloeistoffen die in de uitsparingen zijn gepipetteerd in de agar. Indien er antibiotica-activiteit in de vloeistoffen aanwezig is waarvoor de bacteriën op de plaat gevoelig zijn, zal de groei geremd worden, of in het ergste geval zullen de bacteriën doodgaan. De remming is zichtbaar als een lichte heldere ring (figuur 2). Indien de bacteriën niet in de groei geremd zijn wordt de agar troebel.

- De groeiremming wordt na 24 uur incuberen visueel en fotografisch vastgesteld.
- De test is geslaagd indien de positieve controles groeiremming laten zien en er geen groeiremming heeft plaatsgevonden bij de procedure blanco en de negatieve controle.



Figuur 2. Een monster zonder remzone (negatief) en monster met remzone (positief).

2.4.2 Positieve en negatieve controle

Monsters met een groeiremzone worden als positief beoordeeld: dit betekent dat er stoffen aanwezig zijn met een antibiotica-werking. Hoe groter de remzone hoe hoger de concentratie van het aanwezige antibioticum in het monster. Exacte identificatie van het aanwezige antibioticum is met deze test echter niet mogelijk. De testplaat met de grootste remming bepaalt de stofgroep/identiteit van het aanwezige residu. Monsters zonder groeiremzones worden als negatief beoordeeld. De interpretatie van de resultaten van de antibiotica test zijn dus kwalitatief en niet kwantitatief.

2.4.3 Uitwerking resultaten

De resultaten van de screening test worden schematisch uitgewerkt. Voor de schematische weergaven worden de foto's van de platen met behulp van Microsoft Power Point bewerkt. Eerst wordt een cirkel de rond de omtrek van de middelste uitsparing van de plaat getrokken, waarbij de getrokken cirkel de bovenrand van de uitsparing volgt. Rond de omtrek van de groeiremmingzones (buitenring) wordt eveneens een cirkel getrokken. De breedte van de cirkel van de middelste uitsparing wordt gelijk gesteld aan de hoogte. Deze cirkel wordt gekopieerd en over de omtrek van de overige uitsparingen gelegd. Overigens wordt dan niets veranderd aan de hoogte en breedte van de cirkel die de omtrek van de remmingzone volgt. Tot slot is hiermee het mogelijk om het meetresultaat schematisch weer te geven en de remmingzones van verschillende platen kunnen hierdoor in één overzicht met elkaar vergeleken worden.

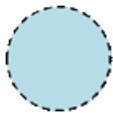
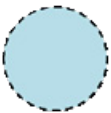
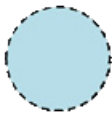
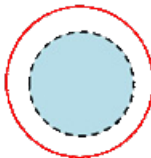
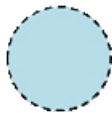
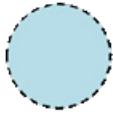
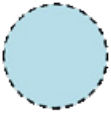
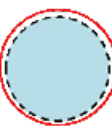
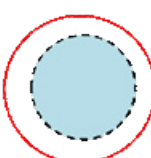
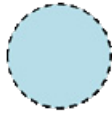
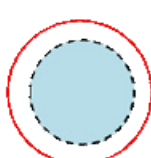
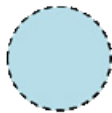
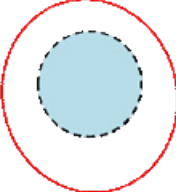
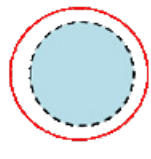
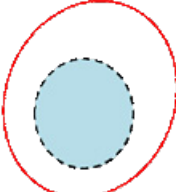
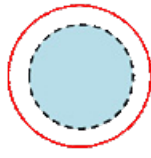
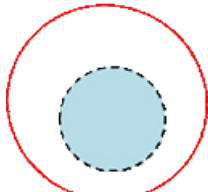
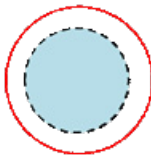
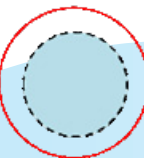
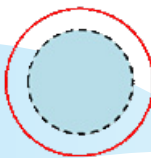
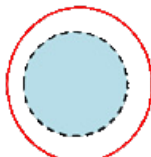
Hierbij is nauw aangesloten bij de werkwijze die vanuit RWS is ontwikkeld analoog aan een screening van onder andere Maaswater (Stroomberg en Schrap, 2007; Grontmij, 2010).

Resultaten

In Tabel 2 en 3 zijn de resultaten weergegeven van de monsterlocaties Lobith en Nieuwegein. In Tabel 4 zijn de resultaten weergegeven van de controles. In Bijlage 2 zijn de onbewerkte foto's weergegeven van de agarplaten. In tabellen 5 (Lobith) en 6 (Nieuwegein) is een overzicht gegeven van de monsters waar kwalitatief is aangegeven of een monster antibiotica-activiteit toont of niet.

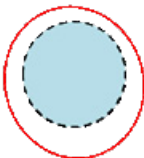
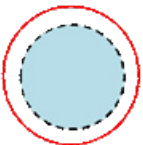
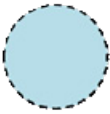
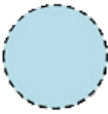
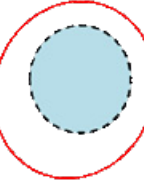
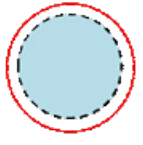
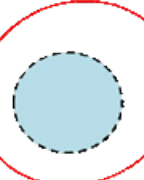
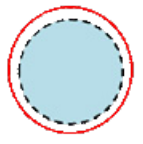
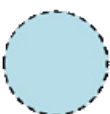
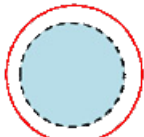
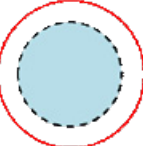
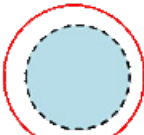
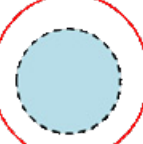
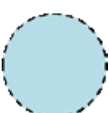
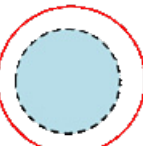
Tabel 2. Schematisch overzicht van groeiremmingszones gerelateerd aan antibioticaklasse voor de onderzochte monsters van Lobith. De gestreepte cirkels zijn de buitenranden van de well waarin het extract van een monster in gepipetteerd is. Indien groeiremming aanwezig is geeft de rode lijn de omtrek van de groeiremmingszone weer.

Monstern ame datum	Ecolims- nummer	Tetracycli nen	Quinolonen	Sulfonamiden	Macroliden/ β-lactam	Aminoglyco siden
11-01-2012	800324					
08-02-2012	800326					
07-03-2012	800329					
04-04-2012	800330					
02-05-2012	800332					

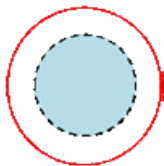
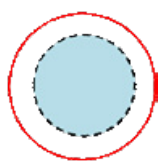
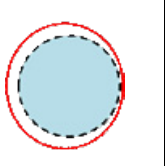
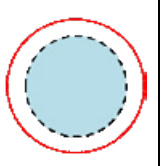
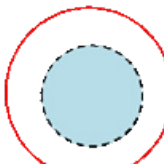
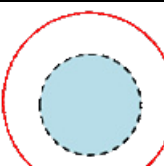
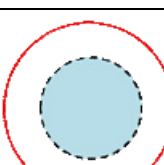
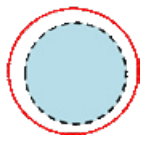
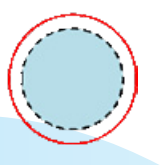
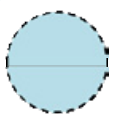
30-05-2012	800334					
27-06-2012	800350					
25-07-2012	800354					
22-08-2012	800368					
19-09-2012	800370					
17-10-2012	800382					
14-11-2012	800397					
12-12-2012	800431					

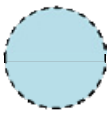
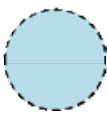
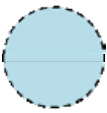
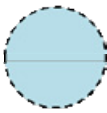
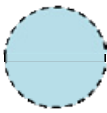
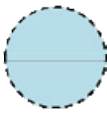
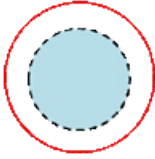
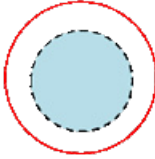
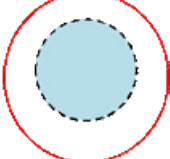
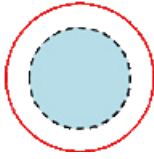
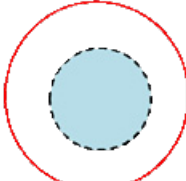
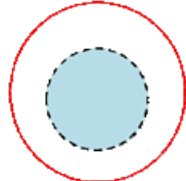
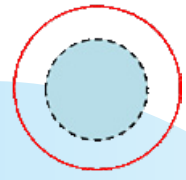
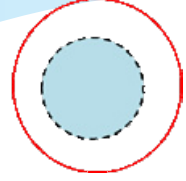
Tabel 3. Schematisch overzicht van groeiremmingszones gerelateerd aan antibioticaklasse voor de onderzochte monsters van Nieuwegein. De gestreepte cirkels zijn de buitenranden van de well waarin het extract van een monster in gepipetteerd is. Indien groeiremming aanwezig is geeft de rode lijn de omtrek van de groeiremmingszone weer.

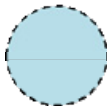
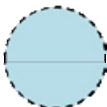
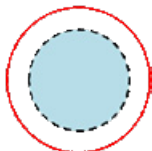
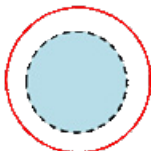
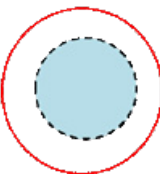
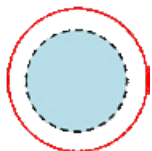
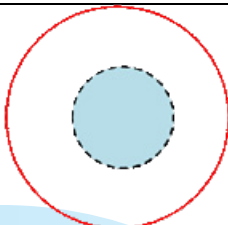
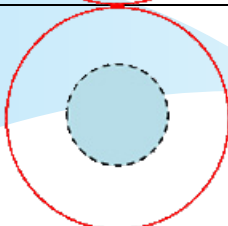
Monstern ame datum	Ecolims- nummer	Tetracycli nen	Quinolonen	Sulfonamiden	Macroliden/ β-lactam	Aminoglyco siden
11-01-2012	800325					
08-02-2012	800327					
07-03-2012	800328					
04-04-2012	800331					
02-05-2012	800333					
30-05-2012	800335					
27-06-2012	800351					

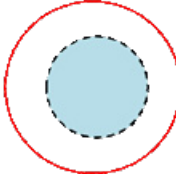
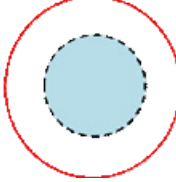
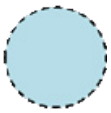
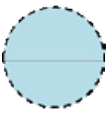
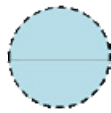
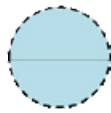
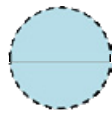
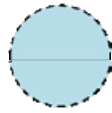
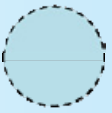
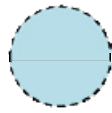
25-07-2012	800355					
22-08-2012	800369					
19-09-2012	800371					
17-10-2012	800383					
14-11-2012	800398					
12-12-2012	800430					

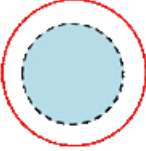
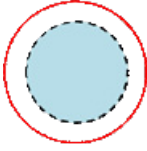
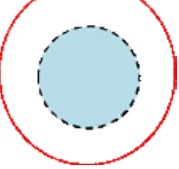
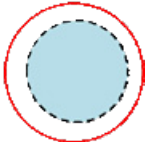
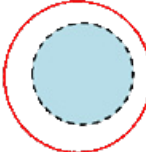
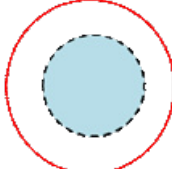
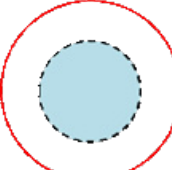
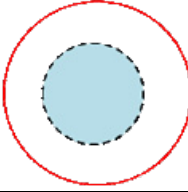
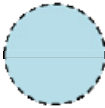
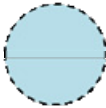
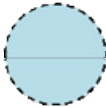
Tabel 4. Resultaten van de controles. Controles omvatten een positieve controle, een procedure blanco demiwater, en een negatieve blanco methanol. NB. De Macroliden/ β -lactam test heeft 2 verschillende positieve controles: positieve controle P = penicilline (een β -lactam) en positieve controle E= erythromycine (een macrolide).

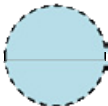
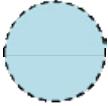
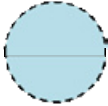
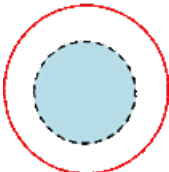
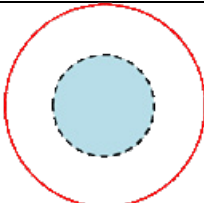
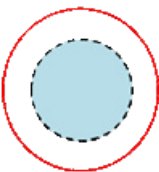
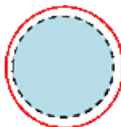
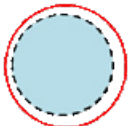
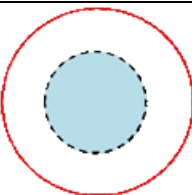
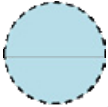
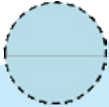
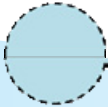
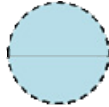
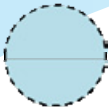
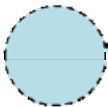
Controle	Tetracyclinen	Quinolonen	Sulfonamiden	Macroliden/ β -lactam	Aminoglyco- siden
Positieve controle 800324 - 800329				nvt	
Positieve controle P 800324 - 800328	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle P 800329 well midden	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle P 800329 well midden onder	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800324 - 800328	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800329	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800324- 800329 (800324- 800328, macroliden/ β -lactam)					

Negatieve blanco methanol 800329 macroliden/ β -lactam replica A	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800329 macroliden/ β -lactam replica B	nvt	nvt	nvt		nvt
Procedure blanco demiwater 800324- 800329					
Positieve controle 800330 - 800335				nvt	
Positieve controle P 800330 - 800334	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle P 800335	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800330 - 800334	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800335	nvt	nvt	nvt		nvt

Negatieve blanco methanol 800330- 800335				nvt	
Negatieve blanco methanol 800330- 800335 macroliden/ β-lactam replica A	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800330- 800335 macroliden/ β-lactam replica B	nvt	nvt	nvt		nvt
Procedure blanco demiwater 800330- 800335					
Positieve controle 800350, 800351, 800354, 800355, 800368, 800369				nvt	
Positieve controle P 800350, 800351, 800354, 800355, 800368	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle P 800369	nvt	nvt	nvt		nvt

Positieve controle E 800350, 800351, 800354, 800355, 800368	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800369	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800350, 800351, 800354, 800355, 800368, 800369				nvt	
Negatieve blanco methanol 800350, 800351, 800354, 800355, 800368, 800369 macroliden/ β-lactam replica A	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800350, 800351, 800354, 800355, 800368, 800369 macroliden/ β-lactam replica B	nvt	nvt	nvt		nvt
Procedure blanco demiwater 800350, 800351, 800354, 800355, 800368, 800369					

Positieve controle 800370, 800371, 800382, 800383, 800397, 800398				nvt	
Positieve controle P 800370, 800371, 800382, 800383, 800397	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle P 800398	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800370, 800371, 800382, 800383, 800397	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800398	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800370, 800371, 800382, 800383, 800397, 800398				nvt	
Negatieve blanco methanol 800370, 800371, 800382, 800383, 800397, 800398 macroliden/ β-lactam replica A	nvt	nvt	nvt		nvt

Negatieve blanco methanol 800370, 800371, 800382, 800383, 800397, 800398 macroliden/ β-lactam replica B	nvt	nvt	nvt		nvt
Procedure blanco demiwater 800370, 800371, 800382, 800383, 800397, 800398					
Positieve controle 800430- 800431				nvt	
Positieve controle P 800430- 800431	nvt	nvt	nvt		nvt
Positieve controle E 800430- 800431	nvt	nvt	nvt		nvt
Negatieve blanco methanol 800430- 800431					
Procedure blanco demiwater 800430- 800431					

Tabel 5: Overzicht waar de aanwezigheid van activiteit ("+") of geen activiteit ("-") van de desbetreffende antibioticaklassen is weergegeven voor de onderzochte monsters van **Lobith**.

Monsternamen datum	Ecolimsnummer	Tetracyclinen	Quinolonen	Sulfonamiden	Macroliden / β-lactam	Amino- glycosiden
11-01-2012 Lobith	800324	-	-	-*	+	-
08-02-2012 Lobith	800326	-	-	-*	+	+
07-03-2012 Lobith	800329	-	-	+*	+	+
04-04-2012 Lobith	800330	-	-	-	+	+
02-05-2012 Lobith	800332	-	-	-	+	-
30-05-2012 Lobith	800334	-	-	-	+	-
27-06-2012 Lobith	800350	-	-	+	+	-
25-07-2012 Lobith	800354	-	-	+	+	-
22-08-2012 Lobith	800368	-	-	+	+	-
19-09-2012 Lobith	800370	-	-	+	+	-
17-10-2012 Lobith	800382	-	-	+	+	-
14-11-2012 Lobith	800397	-	-	+	+	-
12-12-2012 Lobith	800431	-	-	-	+	-

* De uitslag van de Sulfonamiden test van analyse datum 28-3-2012 is minder betrouwbaar doordat de door het Rikilt aangeleverde positieve controle en agarplaat van mindere kwaliteit was.

Tabel 6: Overzicht waar de aanwezigheid van activiteit ("+") of geen activiteit ("-") van de desbetreffende antibioticaklassen is weergegeven voor de onderzochte monsters van **Nieuwegein**.

Monsternamen datum	Ecolimsnummer	Tetracyclinen	Quinolonen	Sulfonamiden	Macroliden / β-lactam	Amino- glycosiden
11-01-2012 Nieuwegein	800325	-	-	+*	+	-
08-02-2012 Nieuwegein	800327	-	-	-*	+	-
07-03-2012 Nieuwegein	800328	-	-	+*	+	+
04-04-2012 Nieuwegein	800331	-	-	+	+	-
02-05-2012 Nieuwegein	800333	-	-	-	+	-
30-05-2012 Nieuwegein	800335	-	-	+	+	-
27-06-2012 Nieuwegein	800351	-	-	+	+	-
25-07-2012 Nieuwegein	800355	-	-	+	+	-
22-08-2012 Nieuwegein	800369	-	-	+	+	-
19-09-2012 Nieuwegein	800371	-	-	+	+	-
17-10-2012 Nieuwegein	800383	-	-	+	+	-
14-11-2012 Nieuwegein	800398	-	-	+	+	-
12-12-2012 Nieuwegein	800430	-	-	-	+	-

* De uitslag van de Sulfonamiden test van analyse datum 28-3-2012 is minder betrouwbaar doordat de door het Rikilt aangeleverde positieve controle en agarplaat van mindere kwaliteit was.

Discussie

4

4.1 Resultaten antibiotica-activiteit

4.1.1 Controles testen

De uitvoering van de antibiotica testen is over het algemeen goed verlopen, de positieve controles geven bij de screeningtest een positieve uitslag (groeiremming) en de negatieve controles en procedureblanco's een negatieve uitslag (groei). Ook geven de replica's van de positieve controles op de platen vrijwel een gelijke uitslag. De uitslagen van de positieve controles op de platen van gelijke antibioticaklassen zijn ook vrijwel hetzelfde. Een uitzondering hierop is de uitslag van de Sulfanomiden test van analysedatum 28-3-2012 (monsternamedata 11-01-2012, 08-02-2012 en 07-03-2012), die minder betrouwbaar is omdat de door het Rikilt aangeleverde positieve controle en agarplaat van mindere kwaliteit was. Bij de interpretatie van resultaten in hoofdstuk 4 moet hier rekening mee gehouden worden.

4.1.2 Antibiotica-activiteit

De resultaten geven aan dat gedurende 2012 geen antibiotica-activiteit is waargenomen op de monsterlocaties Lobith en Nieuwegein voor de antibioticaklassen Tetracyclinen en Quinolonen.

Antibiotica-activiteit van Macroliden/ β -lactam is gedurende het hele jaar waar te nemen op zowel de monsterlocaties van Lobith als Nieuwegein. Antibiotica-activiteit van Aminoglycosiden is wel waargenomen, maar voor Lobith alleen in februari t/m april. Nieuwegein vertoont alleen antibiotica-activiteit van Aminoglycosiden in maart. Antibiotica-activiteit van de Sulfanomiden is op beide monsterlocaties ook veelvuldig waargenomen. Lobith vertoont antibiotica-activiteit van Sulfanomiden in maart en juni tot en met november. Nieuwegein vertoont Sulfanomiden activiteit gedurende het gehele jaar 2012, behalve februari, mei en december.

4.2 Trends in de tijd

Een belangrijke onderzoeksvraag binnen de huidige studie is of trends in de tijd in antibiotica-activiteit zijn waar te nemen. De antibiotica screening assay geeft geen kwantitatieve resultaten weer, slechts een 'ja' of 'nee' antwoord of activiteit van een antibioticaklasse aanwezig is. En zo ja, dan kan geen uitspraak gedaan worden welk antibioticum precies de activiteit veroorzaakt of wat zijn relatieve aandeel aan de activiteit is.

De antibioticaklassen Tetracyclinen en Quinolonen laten op beide monsterlocaties nooit antibiotica-activiteit zien, terwijl de antibioticaklasse Macroliden/ β -lactam juist altijd antibiotica-activiteit toont gedurende 2012 bij Lobith en Nieuwegein (zie tabellen 5 en 6).

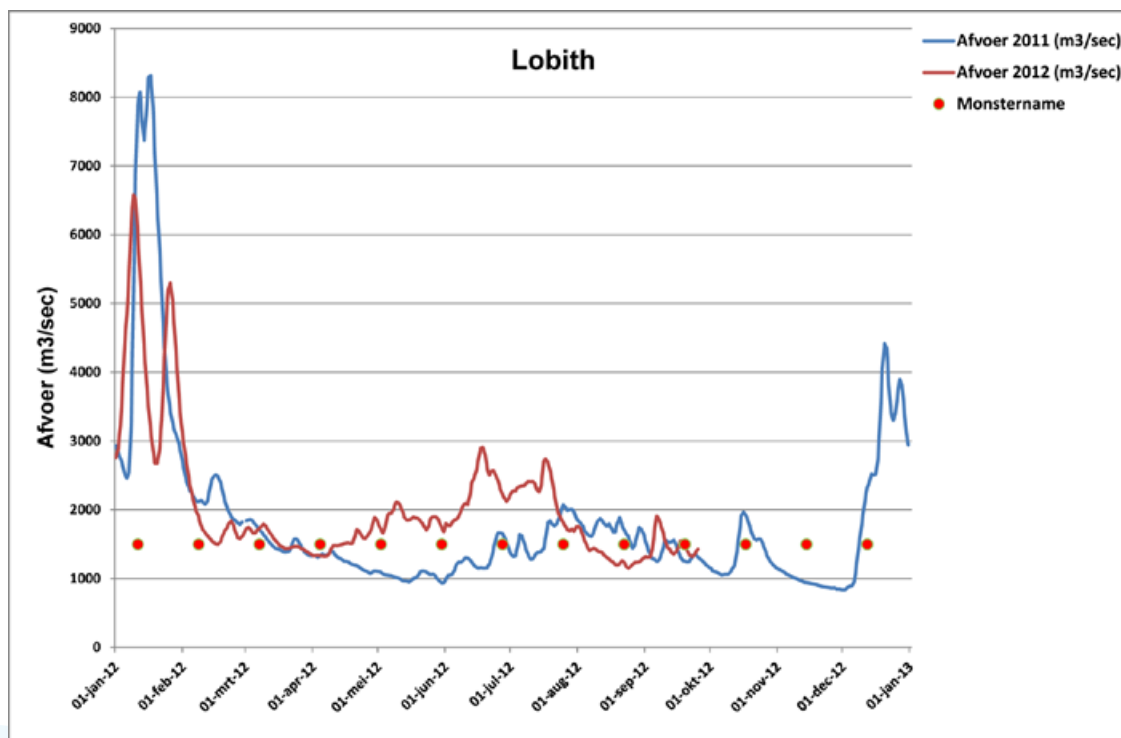
4.2.1 Lobith

De afvoer van een rivier is een belangrijke variabele die invloed kan hebben op de antibiotica-activiteit, omdat een hoge afvoer een grotere verdunning veroorzaakt van aanwezige antibiotica gehalten in het water. In figuur 3 zijn daarom de monsternamedata weergegeven in combinatie met de afvoer in 2011 en 2012 van Lobith. De afvoergegevens zijn afkomstig van de Waterbasedatabase. Omdat op het moment van schrijven nog geen afvoergegevens van Lobith beschikbaar waren vanaf oktober, zijn ook de afvoergegevens uit 2011 weergegeven om een indicatie te krijgen wat de afvoer zou kunnen zijn. Afvoergegevens van drinkwater innamepunt Nieuwegein zijn niet beschikbaar.

In figuur 3 is te zien dat de afvoer op monsterlocatie Lobith een sterke piek laat zien in januari, die in februari vervolgens sterk afneemt. De afvoer neemt echter gedurende april tot en met juli weer licht toe, maar nooit tot de afvoer die in januari te zien is. Afvoergegevens van Lobith uit 2012 zijn niet weergegeven, maar op basis van de afvoergegevens uit 2011 mag aangenomen worden dat de afvoer in december weer sterk stijgt. De waargenomen activiteit van de Aminoglycosiden in februari – april correleert goed met de lage afvoer bij Lobith gedurende deze periode. Echter, een vergelijkbare afvoer is in figuur 3 te zien vanaf augustus tot en met waarschijnlijk november. Gedurende deze periode is echter geen activiteit waar te nemen van de Aminoglycosiden. Het is mogelijk dat de vracht van antibiotica-activiteit van Aminoglycosiden bovenstrooms van Lobith kleiner is geworden ten opzichte van februari – april.

De trends die zichtbaar zijn in de antibiotica-activiteit van de Sulfonamiden zijn moeilijker te interpreteren dan de Aminoglycosiden. De antibiotica-activiteit van Sulfonamiden is waargenomen in maart, wat goed overeenkomt met de lage afvoer bij Lobith gedurende deze periode. Als antibiotica-activiteit echter alleen afhankelijk is van de mate van verdunning, dan zou in februari en april ook antibiotica-activiteit van Sulfonamiden te zien moeten zijn wat niet het geval is. Vanaf eind juni tot en met november is weer antibiotica-activiteit van Sulfonamiden waargenomen, terwijl de afvoer bij Lobith in juni en juli hoger is dan in februari en april.

Uit de resultaten van Aminoglycosiden en Sulfonamiden kan geconcludeerd worden dat afvoer en dus de mate van verdunning een invloed heeft op het voorkomen van antibiotica-activiteit bij Lobith. Ook blijkt dat de bovenstroomse aanvoer van antibiotica-activiteit van de antibioticaklassen (lees: gehalten van individuele antibiotica) varieert gedurende 2012. Geen informatie is beschikbaar van de bovenstroomse brontypen en seizoensafhankelijke emissies van antibiotica, waardoor geen eenduidige verklaring is te geven over de waargenomen trends.



Figuur 3. Afvoer (m³/s) van monsterlocatie Lobith in 2011 en 2012. De rode punten geven de monstername data weer.

4.2.2 Nieuwegein

Voor monsterlocatie Nieuwegein zijn geen afvoergegevens beschikbaar. De interpretatie van activiteit in combinatie met afvoer is dan ook niet mogelijk. Duidelijk is dat nooit antibiotica-activiteit is waargenomen voor de Tetracyclinen en Quinolonen. De Aminoglycosiden laten alleen in maart activiteit zien. Bij Lobith is gedurende deze periode ook activiteit waargenomen. Geen logische trend is te herkennen in de waargenomen activiteit van de Sulfonamiden gedurende 2012.

4.3 Antibiotica gebruik in Nederland en voorkomen in oppervlaktewater

Om een gevoel te krijgen over de brontypen en welke antibiotica mogelijk verantwoordelijk kunnen zijn voor de waargenomen antibiotica-activiteit in de huidige studie, is in deze paragraaf achterliggende informatie weergegeven.

4.3.1 Antibiotica gebruik in Nederland

In zowel de veterinaire als de humane gezondheidszorg behoort de overgrote meerderheid van voorgeschreven antibiotica tot één van de volgende zes klassen: (fluoro)Quinolonen, Aminoglycosiden, Macroliden, Tetracyclines, Sulfonamiden/Trimethoprim, en Penicillines/Cephalosporines (RIVM, 2010). De belangrijkste humane antibiotica van de 5 antibioticaklassen waarvan de antibiotica test activiteit weergeeft zijn weergegeven in Bijlage 3.

Elke antibioticaklasse omvat verschillende antibiotica die overeenkomen in structuur en werkingsmechanisme. In de veterinaire sector worden vooral Tetracyclines en Sulfonamiden/ Trimethoprim voorgeschreven (MARAN, 2007). Er bestaan echter verschillen tussen verschillende diergroepen, zo wordt bijvoorbeeld bij vleesvarkens vooral Tetracycline gebruikt (58%), en bij broedkippen vooral Penicillines (28%) en Fluoroquinolonen (24%) (MARAN, 2007). In de humane gezondheidszorg worden in de primaire zorg (via huisartsen) vooral Penicillines (39%) en Tetracyclines (25%) voorgeschreven (Nethmap, 2009). In ziekenhuizen bestaat de meerderheid van de voorgeschreven antibiotica uit Penicillines/Cephalosporines (61%), gevolgd door Fluoroquinolonen (13%) (RIVM, 2010).

Geofox Lexmond heeft in 2009 een literatuurstudie uitgevoerd over veterinaire antibiotica in de bodem en oppervlaktewater. Uit de studie blijkt dat antibiotica uit de groepen Tetracyclinen en Sulfonamiden circa 75% van het verbruik vormen. De actieve stoffen Oxytetracycline en Sulfamethoxazol zijn binnen deze twee groepen veelgebruikte stoffen. Abiotische en biotische factoren die het gedrag van antibiotica in de bodem en het grondwater beïnvloeden zijn de hoeveelheid mest, de opslagtijd van mest, de pH, de temperatuur, de hoeveelheid water (hydrolyse), de hoeveelheid bacteriën, fractie organische koolstof, fractie zand, fractie klei, fractie silt, de hoeveelheid mineralen, de mate van fotolyse en het zuurstofgehalte. Van de meeste parameters is het onbekend in hoeverre ze processen met betrekking tot bijvoorbeeld de afbraak stimuleren of tegengaan. Van Sulfamethoxazol is wel bekend dat deze stof mobiel is en daarom relatief makkelijk naar het grondwater of oppervlaktewater zal verspreiden. Oxytetracycline daarentegen adsorbeert sterk aan bodemdeeltjes en zal dus minder makkelijk verspreiden. De halfwaardetijden kunnen verschillen van enkele dagen tot een jaar. Over metabolisme zijn weinig gegevens gevonden. Voor de emissie van antibiotica naar het oppervlaktewater zijn bemestingsgraad en gehalten antibiotica in mest sterk bepalende factoren. De drie belangrijkste producenten van mest zijn runderen, varkens en pluimvee (kippen). Een onderscheid kan gemaakt worden in graslanden en akkers, vanwege het gebruik van verschillende soorten dierlijke mest op deze gronden. Uit gegevens van het CBS blijkt dat vooral in een aantal akkerbouwregio's in het (noord) oosten, zuiden en midden van het land veel dierlijke mest wordt toegepast. Verder wordt ook op de graslandregio's in het westen van Friesland en het oosten van Zuid-Holland veel dierlijke mest (vooral van melkkoeien) toegepast. Het gehalte in mest is niet te meten (er zijn geen geschikte analysemethoden beschikbaar) maar op basis van antibioticagebruik en aannames wordt de zogenaamde PEC (predicted environmental concentration) berekend. Diverse PEC berekeningen op basis van mediane doseringen en standaard mestgift in het voorjaar tonen gehalten van 0,016 tot 13,24 mg/kg bodem.

4.3.2 Voorkomen antibiotica in oppervlaktewater

Kwantificering van de resultaten van de antibiotica screening assays is niet goed mogelijk om diverse redenen. De remmingzone neemt, boven een bepaalde concentratie, niet meer rechtevenredig toe met de toename van de concentratie. Hogere concentraties boven een bepaalde drempel leiden dan niet meer tot grotere remmingzones. Daarnaast loopt de gevoeligheid van de plaat voor bepaalde antibiotica erg uiteen. Om toch een gevoel te krijgen voor de waargenomen concentraties per antibioticaklasse is door Stroomberg en Schrap (2007) een concentratie schatting gemaakt op basis van de mediaan van de aantoonbaarheidsgrens van iedere plaat (zie tabel 7). Deze hoeveelheid is omgerekend naar de concentratie in het monster. Aangenomen wordt dat de kleinst waarneembare remmingszone overeenkomt met deze aantoonbaarheidsgrens. Met de resultaten uit tabel 5 en 6 is na te gaan tot welke drempelconcentratie een antibioticaklasse wel of niet op een locatie aanwezig kan zijn.

Tabel 7: Mediaan aantoonbaarheidsgrenzen in oppervlaktewater per antibioticaklasse.

Antibioticaklasse	Aantoonbaarheidsgrens
Tetracyclines	70 ng/l
Quinolonen	100 ng/l
Sulfonamiden	140 ng/l
Macroliden	100 ng/l
Aminoglycosiden	50 ng/l

Chemische monitoringsgegevens van antibiotica in Nederlandse oppervlaktewateren zijn schaars. RIWA-Rijn meet zelf jaarlijks een groot aantal stoffen bij verschillende locaties. In 2011 heeft RIWA bij Nieuwegein een reeks van antibiotica in het monitoringsprogramma opgenomen (RIWA, 2011). De resultaten staan weergegeven in tabel 8. Uit tabel 8 blijkt dat 5 antibiotica zijn aangetoond bij Nieuwegein. Antibiotica behorende tot de groep van sulfonamiden kunnen ook aanwezig zijn bij Nieuwegein, maar door de hoge rapportagegrenzen zijn daar geen zinnige uitspraken over te doen.

Tabel 8: Meetresultaten van antibiotica uit de monitoring door het RIWA bij Nieuwegein in 2011.

Antibioticum	Antibioticaklasse	Dimensie	Rapportagegrens	Nieuwegein 2011
chlooramfenicol	overige humane antibiotica	µg/l	0,002	<
Oxacilline	β-lactam/Penicilline	µg/l	0,011	<
sulfamethoxazol	sulfonamiden	µg/l	n.b.	0,054
Trimethoprim	sulfonamiden	µg/l	0,002	0,043
Lincomycine	macroliden	µg/l	n.b.	0,003
Tiamuline	veterinair antibioticum	µg/l	0,002	0,044
sulfaquinoxaline	veterinair antibioticum	µg/l	0,0002	0,077
Dapson	middel tegen mycobacteria	µg/l	1,0	<
Sulfadiazine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfadimidine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfamerazine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
sulfachloorpyridazine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
sulfadimethoxine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfacetamide	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfadoxine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfapyridine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<

Vervolg tabel 8: Meetresultaten van antibiotica uit de monitoring door het RIWA bij Nieuwegein in 2011.

Antibioticum	Antibioticaklasse	Dimensie	Rapportagegrens	Nieuwegein 2011
Sulfafenazol	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfaguanidine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
sulfamethoxypyridazine	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfathiazool	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfatroxazol	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
sulfi soxazol	sulfonamiden	µg/l	1,0	<
Sulfanilamide	sulfonamiden	µg/l	1,0	<

n.b. niet bekend.

4.4 Vergelijking met eerdere studies naar antibiotica-activiteit

Rijkswaterstaat Waterdienst heeft tussen mei en juli 2007 16 locaties in de Maas en zijrivieren bemonsterd door verschillende waterbeheerders en vervolgens de antibiotica-activiteit bepaald (Stroomberg en Schrap, 2007). Uit de resultaten blijkt dat de Macroliden β -lactam het vaakst aangetroffen worden (13 van de 16 locaties), gevolgd door Tetracyclinen (8 van 16), Aminoglycosiden (7 van 16), Sulfonamiden (2 van 16). Quinolonen werden op géén van de geteste locaties aangetroffen (0 van 16). In vergelijking met de huidige studie is het opmerkelijk dat activiteit van de Tetracyclinen bij Nieuwegein en Lobith geen enkele maal is aangetoond. Ook de lage frequentie van antibiotica-activiteit van Sulfonamiden bij locaties in het Maasstroomgebied strookt niet geheel met de resultaten uit de huidige studie.

Grontmij heeft in 2009 watermonsters op antibiotica-activiteit gescreend (Grontmij, 2010) op de locaties Lobith, Eijsden (Maas) en Brienenoord (Nieuwe Maas). Watermonsters waren maandelijks genomen van januari tot en met mei. Antibiotica-activiteit van de antibioticumklasse Macroliden/M-lactam is op alle locaties aangetoond, terwijl antibiotica-activiteit van de Quinolonen op geen van de locaties is aangetroffen. Verder werden Sulfonamiden ook relatief vaak aangetroffen. Aanwezigheid van Aminoglycosiden is slechts een aantal keer waargenomen op de bemonsterde locaties, terwijl Tetracyclines slechts in 1 monster zijn aangetroffen. Deze resultaten uit 2009 komen goed overeen met de waargenomen activiteit van antibioticaklassen in de huidige studie.

Conclusies en aanbevelingen 5

5.1 Algemene conclusies

Uit de huidige studie kunnen de volgende algemene conclusies getrokken worden:

- De uitvoering van de antibiotica screeningstesten is over het algemeen goed verlopen. Alleen de uitslag van de Sulfonamiden van beide monsterlocaties van januari tot en met maart is minder betrouwbaar doordat de aangeleverde positieve controle en agarplaat van mindere kwaliteit was.
- Geen antibiotica-activiteit is waargenomen op de monsterlocaties Lobith en Nieuwegein gedurende 2012 voor de antibiotica-classes Tetracyclinen en Quinolonen. Antibiotica-activiteit van Macroliden/ β -lactam is altijd aangetoond op beide monsterlocaties. Antibiotica-activiteit van Sulfonamiden is ook frequent aangetoond op beide monsterlocaties gedurende het hele jaar 2012. Antibiotica-activiteit van de Aminoglycosiden is veel minder frequent aangetoond op beide monsterlocaties, en dan alleen tussen februari - april.
- Voor de antibiotica-classes Tetracyclinen, Quinolonen en Macroliden/ β -lactam zijn geen trends waar te nemen, omdat er eenvoudigweg altijd of nooit activiteit gedurende 2012 is waargenomen bij Lobith en Nieuwegein. Voor de Sulfonamiden en Aminoglycosiden het niet goed mogelijk om een duidelijke trend te ontdekken op beide locaties. De afvoer en dus de mate van verdunning lijkt bij Lobith een invloed te hebben op het voorkomen van antibiotica-activiteit. Ook blijkt de bovenstroomse aanvoer van antibiotica-activiteit van de antibiotica-classes (lees: gehalten van individuele antibiotica) te variëren gedurende 2012. Omdat geen gedetailleerde informatie beschikbaar is van de bovenstroomse brontypen en seizoensafhankelijke emissies van antibiotica, kan geen eenduidige verklaring geven worden over de waargenomen trends.
- De resultaten uit de huidige studie komen over het algemeen goed overeen met eerdere studies naar antibiotica-activiteit van antibiotica-classes in oppervlaktewater.

5.2 Aanbevelingen

Inherent aan het gebruik van de antibiotica screening assay is dat bij de aanwezigheid van activiteit bij een bepaalde antibiotica-klasse geen uitspraken gedaan kunnen worden welk(e) antibioticum/a de activiteit heeft veroorzaakt of wat zijn/hun relatieve bijdrage is. Vanuit het perspectief van overschrijdingen van de DMR-streefwaarde voor stoffen van 0,1 $\mu\text{g/l}$ mag verwacht worden dat de Tetracyclinen en Quinolonen geen bedreiging vormen voor de drinkwatersector. Echter, voor de antibiotica-classes Sulfonamiden, Macroliden/ β -lactam en mogelijk Aminoglycosiden kan niet uitgesloten worden dat concentraties van antibiotica aanwezig zijn in het oppervlaktewater die de DMR-streefwaarde overschrijden. Het verdient daarom aanbeveling om voor de bovengenoemde 3 antibiotica-classes een aanvullende chemische monitoring uit te voeren om uit te zoeken welke antibiotica op de monsterlocaties aanwezig zijn, en in welke concentraties. De antibiotica die in bijlage 3 genoemd zijn kunnen als leidraad dienen voor de stofselectie. Hierbij moet opgemerkt worden dat bijlage 3 voornamelijk humane antibiotica omvat, terwijl veterinaire antibiotica vaak ook een aanzienlijk aandeel hebben in antibiotica-activiteit. In paragraaf 4.3.1 zijn enkele voorbeelden gegeven van veterinaire antibiotica. Voor de Sulfonamiden is het van belang dat een analysemethode gebruikt wordt die lage rapportagegrenzen heeft. Naast actieve bemonstering (steekmonsters), kan het zinvol zijn om passieve bemonstering te gebruiken vanwege de grotere watervolumes die bemonsterd en vervolgens geëxtraheerd worden. De vertaling naar waterconcentraties is echter minder betrouwbaar.

Referenties

Costanza, S.D., J. Murby en J. Bates (2004). Ecosystem response to antibiotics entering the aquatic system. Marine Pollution Bulletin nr. 51, pag. 218-223.

Geofox-Lexmond bv (2009). Veterinaire antibiotica in de bodem en oppervlaktewater. Projectnummer 2008o612.

Grontmij (2010). Antibiotica screeningtest in oppervlaktewater met de RIKILT Water-Scan. Grontmij rapportnummer 285661.

MARAN (2007). Monitoring of antimicrobial resistance and antibiotic usage in animals in The Netherlands in 2006/2007 (MARAN). Eds. D. J. Mevius, B. Wit en W. van Pelt.

Nethmap (2009). Consumption of antimicrobial agents and antimicrobial resistance among medically important bacteria in The Netherlands. Eds. J. E. Degener en M. N. Mulders.

Pomati, F., A.G. Netting, D. Calamari en B.A. Neilan (2004). Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp and *Lemna minor*. Aquatic Toxicology nr. 67, pag. 387-396.

Rademaker, W. en M. de Lange (2009). De risico's van geneesmiddelen in het aquatisch milieu. H2O 5, p. 29-32.

RIVM (2010). Antibioticaresistente bacteriën in Nederlands oppervlaktewater in veeteeltrijk gebied. RIVM Rapport 703719031.

RIWA (2011), Jaarrapport De Rijn 2011.

Stroomberg, G. en M. Schrap (2007). Antibiotica screening in Oppervlaktewater en afvalwater. Resultaten van een pilot van oppervlaktewater in het Maasstroomgebied. RWS WD.

Stroomberg, G. en A. Stein (2009). Analysevoorschrift A5.433, versie 1. Oppervlakte en afvalwater- Antibiotica Screening met de Water-Scan.

Bijlage 1

Op SPE-kolom gebrachte volumes watermonsters

Overzicht hoeveelheid monster en procedureblanco (ml) dat geëxtraheerd is. Er is vanuit gegaan dat 1ml monster overeenkomt met 1g monster (zie paragraaf 2.3).

Ecolimsnummer	Volume monster opgebracht op kolom (ml)
Procedureblanco A 800324 – 800329	1011,9
Procedureblanco A 800330 – 800335	1014,2
Procedureblanco A 800350 – 800369	1013,3
Procedureblanco A 800370 – 800398	1000,7
Procedureblanco A 800430 – 800431	n.b.
800324	1005,4
800325	1008,0
800326	1004,6
800327	1006,1
800328	1001,0
800329	974,1
800330	1010,7
800331	1024,6
800332	1009,6
800333	995,9
800334	991,8
800335	1021,3
800350	997,4
800351	1010,4
800354	1003,3
800355	1009,2
800368	1000,6
800369	990,0
800370	1020,9
800371	976,4
800382	987,4
800383	1015,9
800397	1003,3
800398	1003,6
800430	n.b.
800431	n.b.

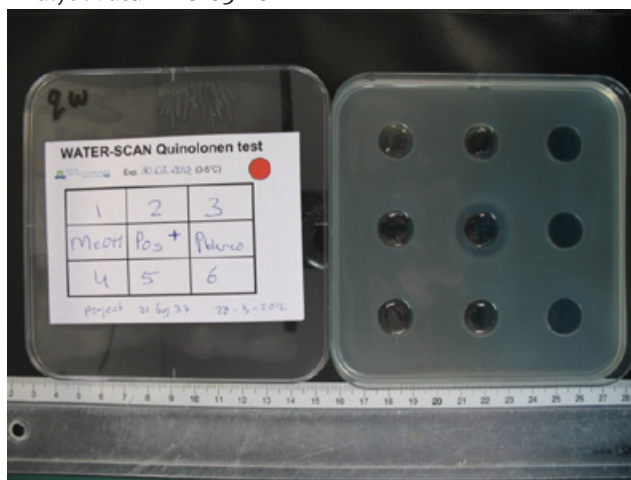
n.b. Extractie is niet door Grontmij maar door BioDetection Systems (BDS) uitgevoerd volgens protocol zoals beschreven in paragraaf 2.3. De totaal opgebrachte hoeveelheid monster op de kolom is niet precies bekend, maar betreft de hoeveelheid zoals door Grontmij is aangeleverd aan BDS (1L-fles per monster).

Bijlage 2

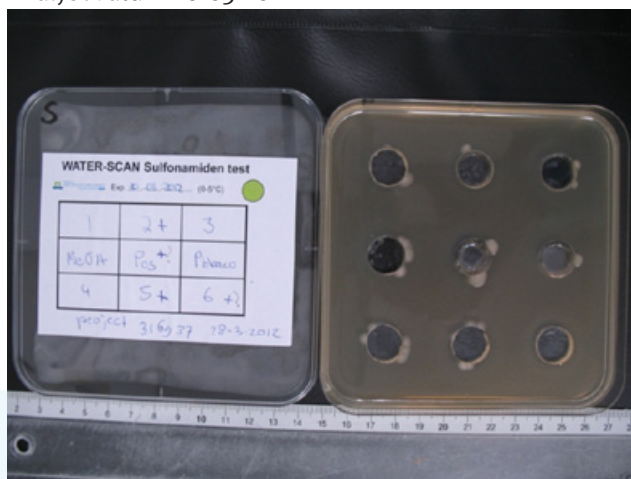
Foto's agarplaten antibioticaklassen na 16 uur incubatie



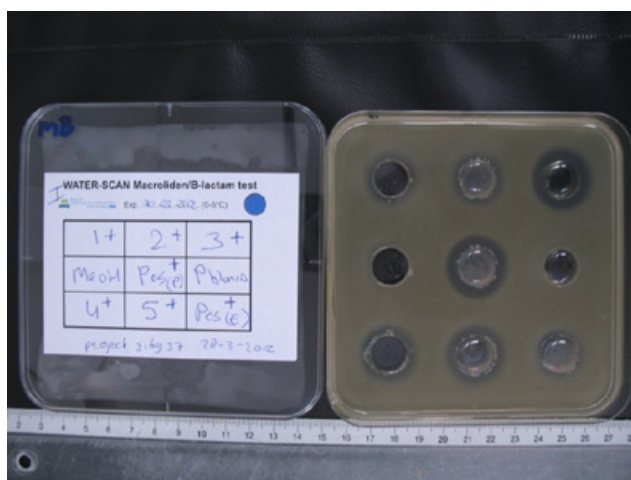
Analysedatum 28-03-2012



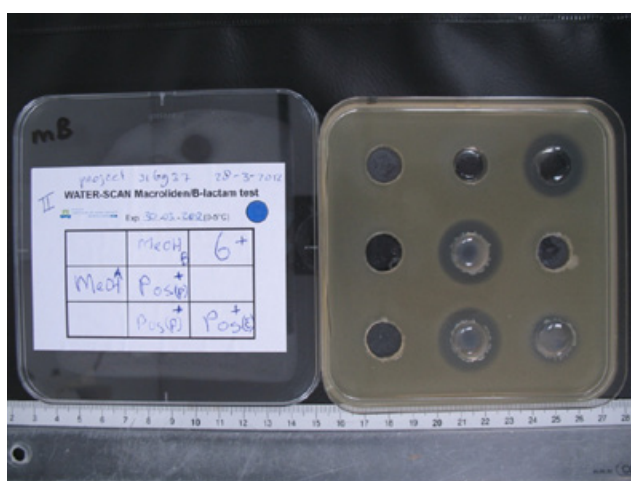
Analysedatum 28-03-2012



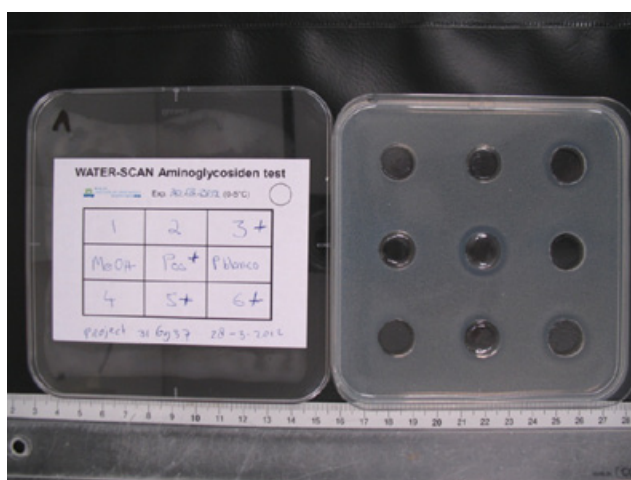
Analysedatum 28-03-2012



Analysedatum 28-03-2012



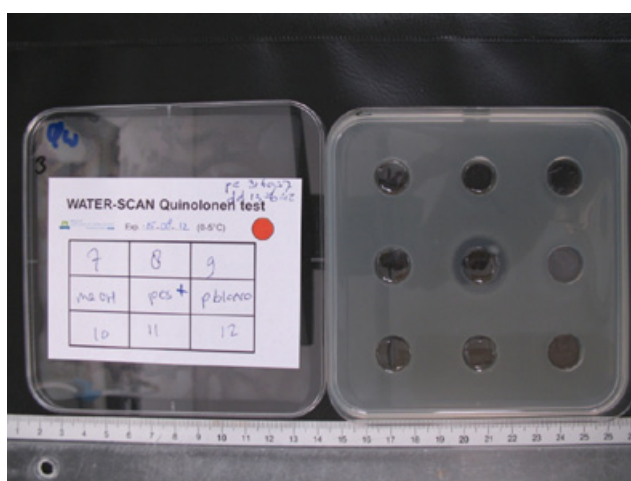
Analysedatum 28-03-2012



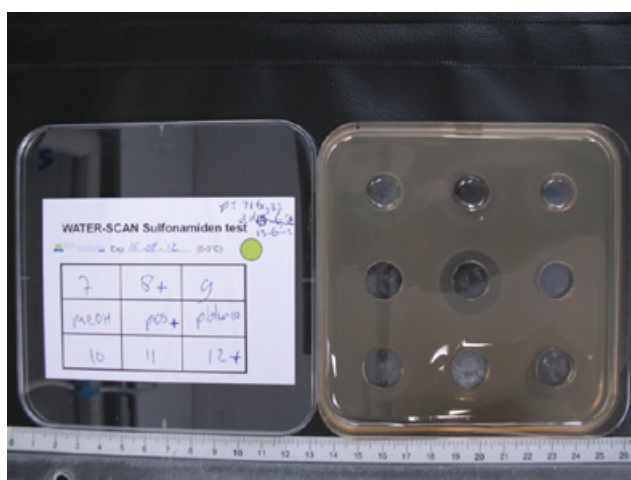
Analysedatum 28-03-2012



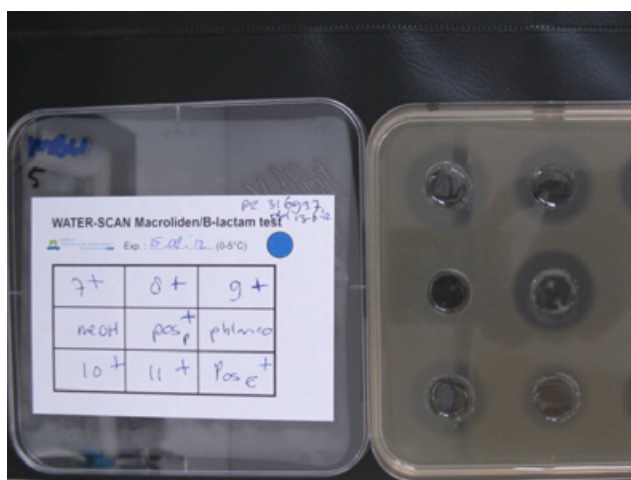
Analysedatum 13-06-2012



Analysedatum 13-06-2012



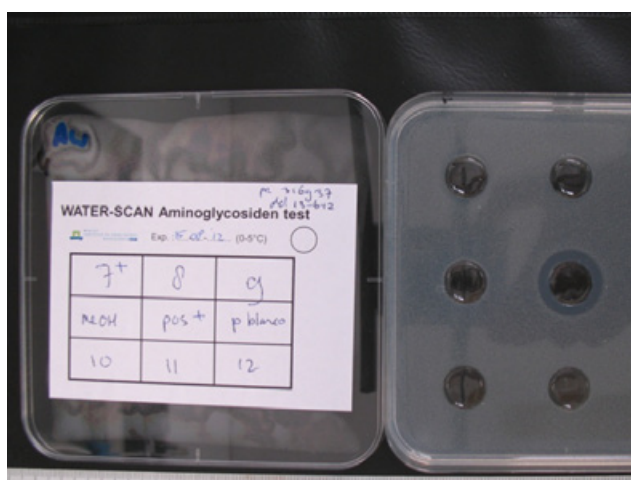
Analysedatum 13-06-2012



Analysedatum 13-06-2012



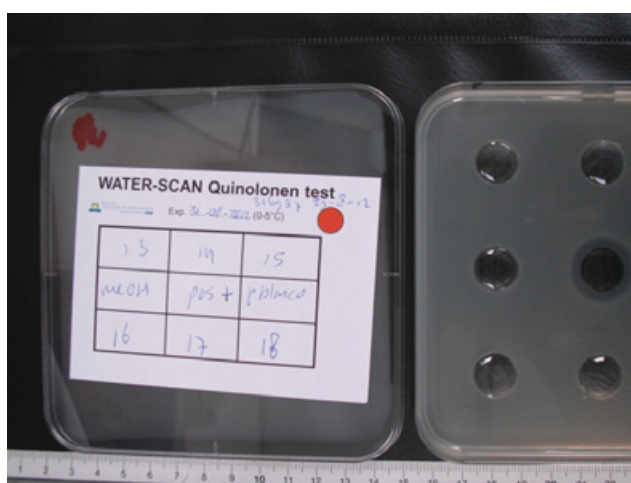
Analysedatum 13-06-2012



Analysedatum 13-06-2012



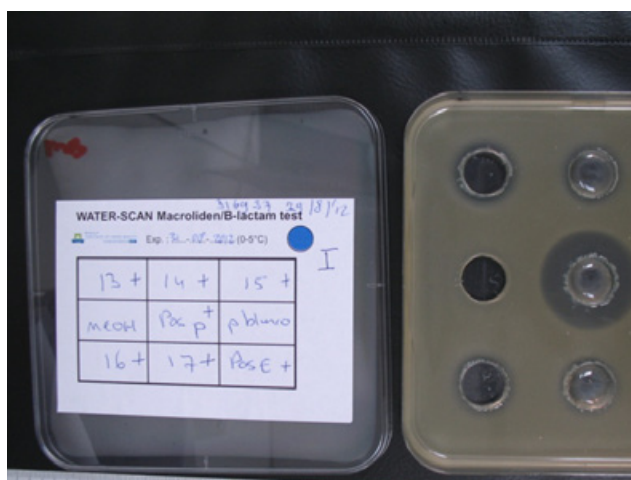
Analysedatum 29-08-2012



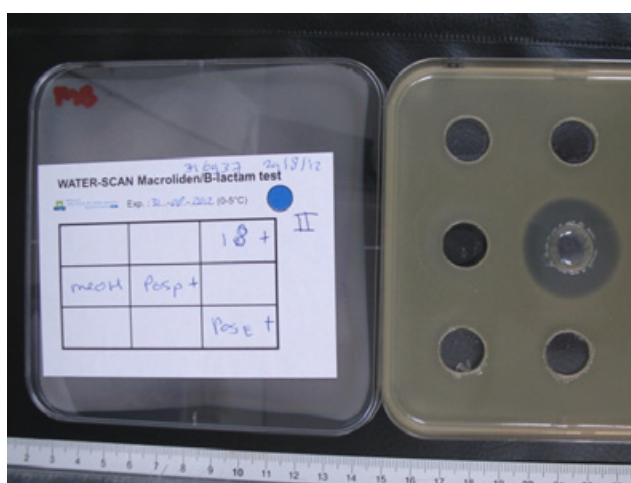
Analysedatum 29-08-2012



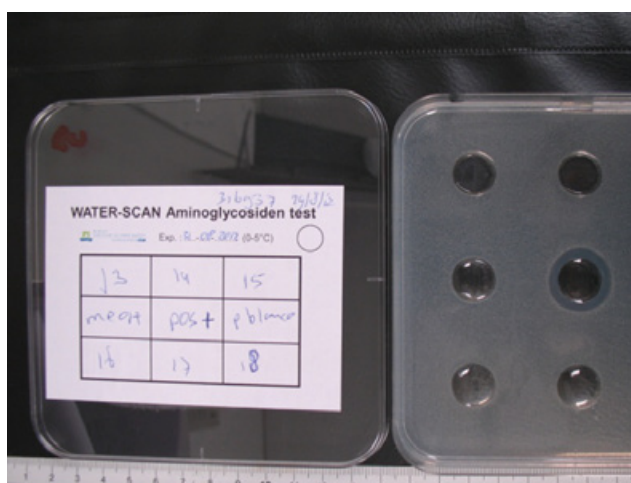
Analysedatum 29-08-2012



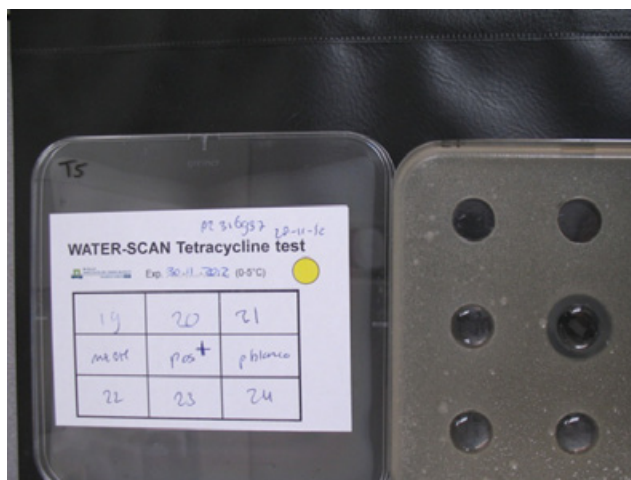
Analysedatum 29-08-2012



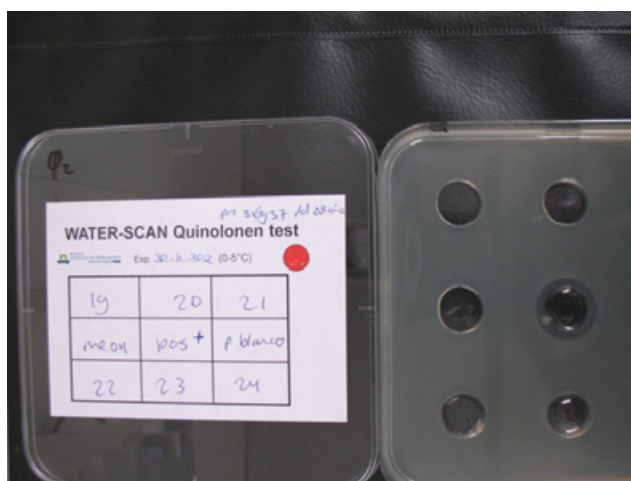
Analysedatum 29-08-2012



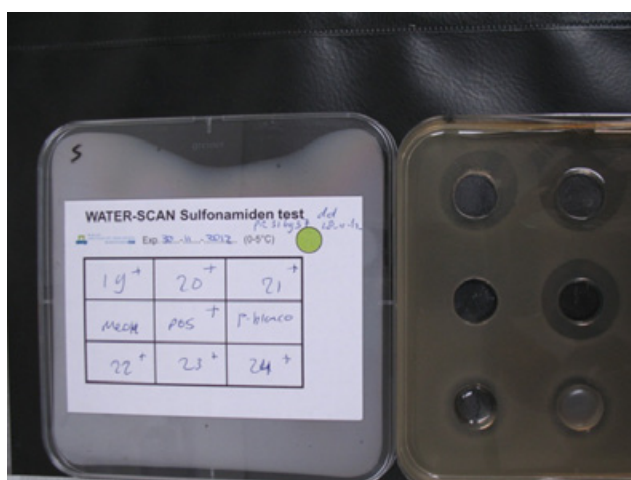
Analysedatum 29-08-2012



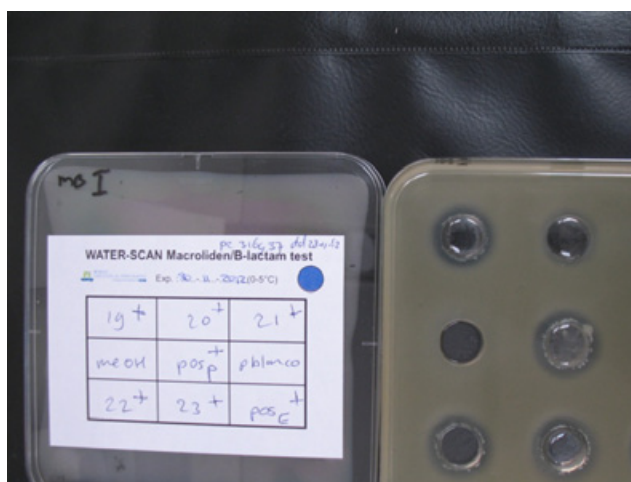
Analysedatum 28-11-2012



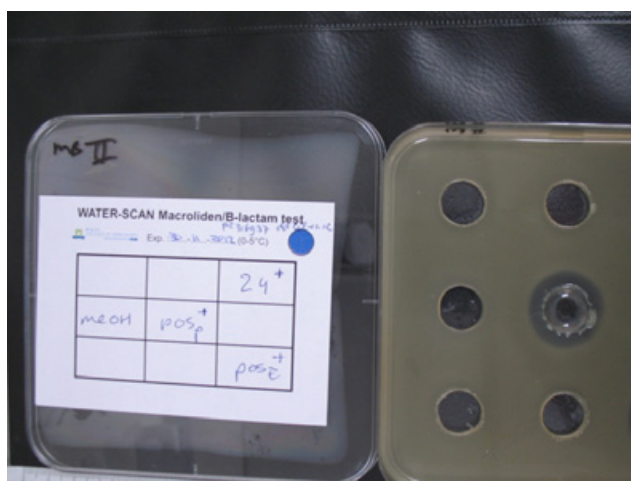
Analysedatum 28-11-2012



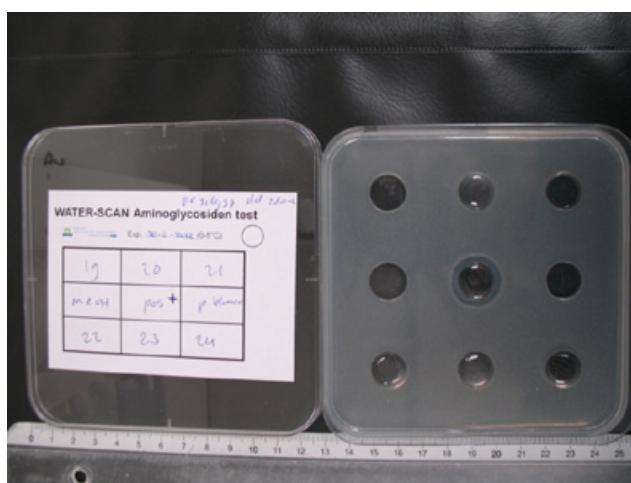
Analysedatum 28-11-2012



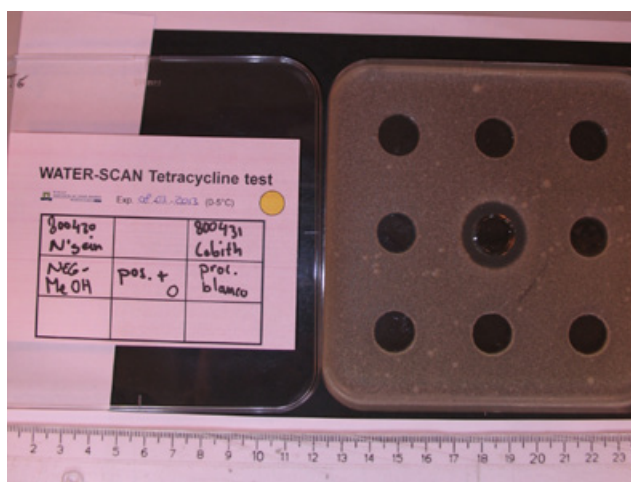
Analysedatum 28-11-2012



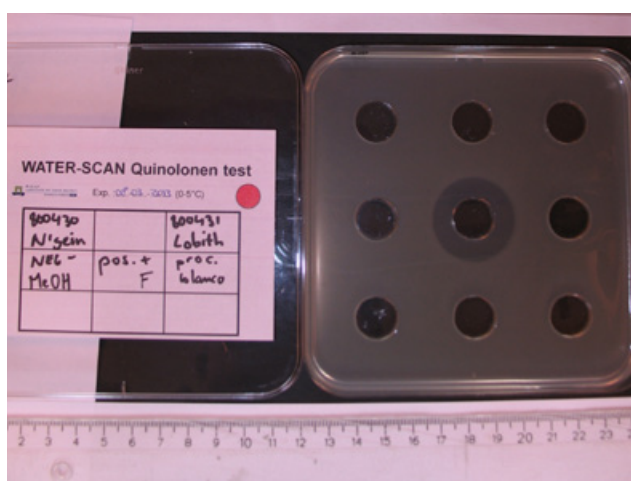
Analysedatum 28-11-2012



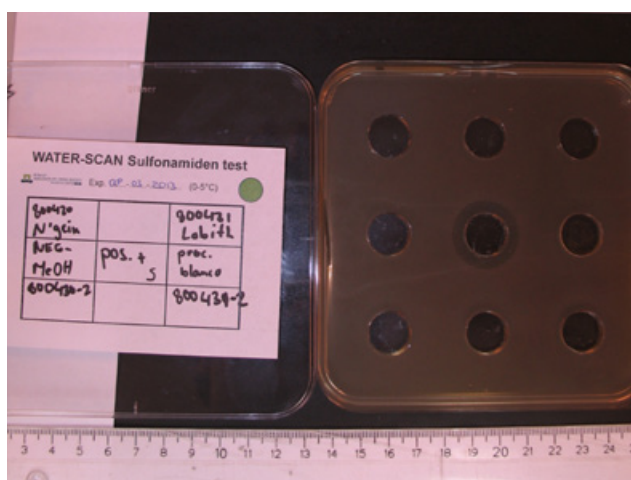
Analysedatum 28-11-2012



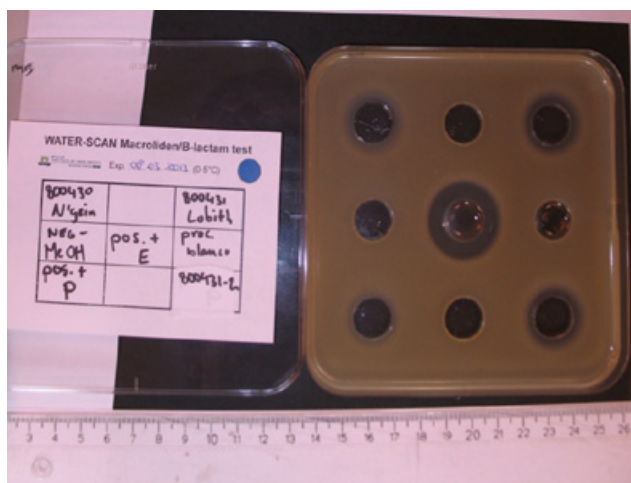
Analysedatum 04-03-2013



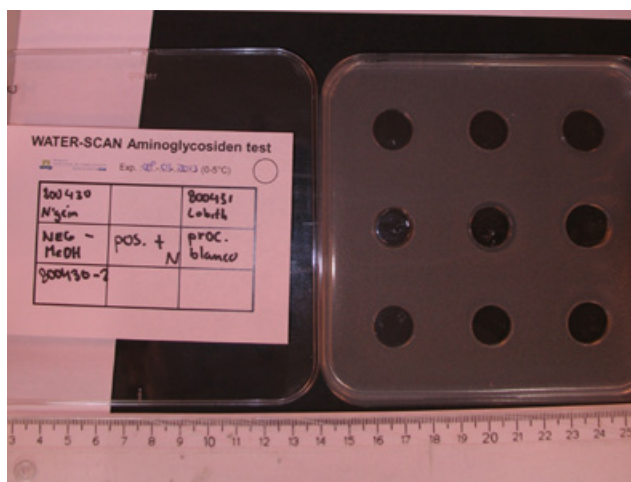
Analysedatum 04-03-2013



Analysedatum 04-03-2013



Analysedatum 04-03-2013



Analysedatum 04-03-2013

Bijlage 3

Humane antibiotica en indeling antibioticaklassen (1)

Antibioticum	Antibioticaklasse
Amikacin	Aminoglycosiden
Gentamicin	Aminoglycosiden
Kanamycin	Aminoglycosiden
Neomycin	Aminoglycosiden
Netilmicin	Aminoglycosiden
Tobramycin	Aminoglycosiden
Paromomycin	Aminoglycosiden
Spectinomycin	Aminoglycosiden
Ciprofloxacin	Quinolonen
Enoxacin	Quinolonen
Gatifloxacin	Quinolonen
Levofloxacin	Quinolonen
Lomefloxacin	Quinolonen
Moxifloxacin	Quinolonen
Nalidixic acid	Quinolonen
Norfloxacin	Quinolonen
Ofloxacin	Quinolonen
Trovafloxacin	Quinolonen
Grepafloxacin	Quinolonen
Sparfloxacin	Quinolonen
Temafloxacin	Quinolonen
Mafenide	Sulfonamiden
Sulfacetamide	Sulfonamiden
Sulfadiazine	Sulfonamiden
Silver sulfadiazine	Sulfonamiden
Sulfadimethoxine	Sulfonamiden
Sulfamethizole	Sulfonamiden
Sulfamethoxazole	Sulfonamiden
Sulfanilimide	Sulfonamiden
Sulfasalazine	Sulfonamiden
Sulfisoxazole	Sulfonamiden
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	Sulfonamiden
Sulfonamidochrysoidine	Sulfonamiden
Demeclocycline	Tetracyclinen
Doxycycline	Tetracyclinen
Minocycline	Tetracyclinen
Oxytetracycline	Tetracyclinen
Tetracycline	Tetracyclinen

Vervolg Humane antibiotica en indeling antibioticaklassen (2)

Antibioticum	Antibioticaklasse
Azithromycin	Macroliden
Clarithromycin	Macroliden
Dirithromycin	Macroliden
Erythromycin	Macroliden
Roxithromycin	Macroliden
Troleandomycin	Macroliden
Telithromycin	Macroliden
Lincomycin	Macroliden
Spiramycin	Macroliden
Amoxicillin	β -lactam/Penicilline
Ampicillin	β -lactam/Penicilline
Azlocillin	β -lactam/Penicilline
Carbenicillin	β -lactam/Penicilline
Cloxacillin	β -lactam/Penicilline
Dicloxacillin	β -lactam/Penicilline
Flucloxacillin	β -lactam/Penicilline
Mezlocillin	β -lactam/Penicilline
Methicillin	β -lactam/Penicilline
Nafcillin	β -lactam/Penicilline
Oxacillin	β -lactam/Penicilline
Penicillin G	β -lactam/Penicilline
Penicillin V	β -lactam/Penicilline
Piperacillin	β -lactam/Penicilline
Temocillin	β -lactam/Penicilline
Ticarcillin	β -lactam/Penicilline
Cefadroxil	β -lactam/Cephalosporins
Cefazolin	β -lactam/Cephalosporins
Cefalotin	β -lactam/Cephalosporins
Cefalexin	β -lactam/Cephalosporins
Cefaclor	β -lactam/Cephalosporins
Cefamandole	β -lactam/Cephalosporins
Cefoxitin	β -lactam/Cephalosporins
Cefprozil	β -lactam/Cephalosporins
Cefuroxime	β -lactam/Cephalosporins
Cefixime	β -lactam/Cephalosporins
Cefdinir	β -lactam/Cephalosporins
Cefditoren	β -lactam/Cephalosporins
Cefoperazone	β -lactam/Cephalosporins
Cefotaxime	β -lactam/Cephalosporins
Cefpodoxime	β -lactam/Cephalosporins
Ceftazidime	β -lactam/Cephalosporins

Vervolg Humane antibiotica en indeling antibioticaklassen (3)

Antibioticum	Antibioticaklasse
Ceftibuten	β -lactam/Cephalosporins
Ceftizoxime	β -lactam/Cephalosporins
Ceftriaxone	β -lactam/Cephalosporins
Cefepime	β -lactam/Cephalosporins
Ceftaroline fosamil	β -lactam/Cephalosporins
Ceftobiprole	β -lactam/Cephalosporins
Aztreonam	β -lactam/ Monobactams
Ertapenem	β -lactam/ Carbapenems
Doripenem	β -lactam/ Carbapenems
Imipenem/Cilastatin	β -lactam/ Carbapenems
Meropenem	β -lactam/ Carbapenems

Ruimte voor notities

This image shows a blank sheet of white paper with horizontal blue lines, resembling notebook paper. The lines are evenly spaced and extend across the width of the page. At the bottom of the page, there is a decorative light blue wavy pattern that spans the entire width. The pattern consists of several overlapping, rounded shapes that create a soft, undulating effect along the bottom edge.

[illegible]



**Vereniging van
Rijnwaterbedrijven**

RIWA-Rijn
Groenendaal 6
3439 LV Nieuwegein
T +31306009030
F +31306009039
E riwa@riwa.org
W www.riwa.org