


Jeroen Helmer
Jelmer Buijs

A close-up photograph of a yellowish fly standing on a dark, textured surface, likely manure, with other flies blurred in the background.

Anti-parasitaire middelen in
mest van ingeschaard vee in
natuurgebieden

Anti-parasitaire middelen in mest van ingeschaard vee in natuurgebieden

Onderzoek in de provincies Zuid-Holland, Noord-Holland, Friesland, Groningen, Drenthe en Limburg
ARK Natuurontwikkeling 2020

Jeroen Helmer, ARK Natuurontwikkeling

Jelmer Buijs, Buijs Agro-Services



Omslagfoto: De maden van de strontvlieg (*Scathophaga stercoraria*) zijn zeer gevoelig voor anti-parasitaire middelen

Jeroen Helmer / ARK Natuurontwikkeling

Voorwoord

De wettelijke status van natuurgebieden is een belangrijke factor ten behoeve van de bescherming van die gebieden, maar sluit niet alle bedreigingen van die gebieden uit. Het is bijvoorbeeld recent bekend geworden dat in natuurgebieden bestrijdingsmiddelen aanwezig zijn en dat die waarschijnlijk voor een belangrijk deel uit de lucht neerslaan (Buijs en Mantingh, 2020), dat er sprake is van aanvoer van giftige stoffen in uiterwaarden via de rivier (Waterforum, 2020) en dat dieren die ingeschaard worden in principe behandeld kunnen zijn met anti-parasitaire middelen. Als we deze gebieden en de soorten planten en dieren die in deze gebieden leven effectief willen beschermen, zal een strategie tegen deze bronnen van vervuiling moeten worden ontwikkeld.

ARK Natuurontwikkeling hoopt dat dit onderzoek bijdraagt aan de bescherming van natuurgebieden tegen ongewenste invloeden van anti-parasitaire middelen.

Dankbetuigingen

Onze dank gaat uit naar Josha Jager (WFSR) voor de nauwgezette analyse van de monsters en zijn geduld bij het beantwoorden van onze vragen. Ook de eigenaren van de terreinen waarvan wij de monsters mochten ontvangen danken wij zeer. Ecoloog Michiel van der Weide van Vereniging Natuurmonumenten danken wij voor de prettige samenwerking bij het contact met de beheerders en Regiohoofd Maarten Breedveld van het Zuid-Hollands Landschap. Uiteraard de beheerders zelf van Vereniging Natuurmonumenten en het Zuid-Hollands Landschap zijn wij bijzonder dank verschuldigd, omdat zonder hun bereidheid om mee te doen, inzet en betrokkenheid dit onderzoek onmogelijk was geweest. Jelmer Buijs bedanken wij voor zijn betrokkenheid en inzet bij het tot stand komen van dit rapport. Esther Blom, Marije Schuurs en Leo Linnartz bedanken we voor het lezen van het concept verslag. Réanna Stegeman danken wij verder voor de verzorging en de logistiek van de monsterpakketten. Tot slot bedanken we Matthew Oates, Natasha Nozdrina en Jelmer Buijs voor de door hen ter beschikking gestelde foto's.

Disclaimer

Voor dit verslag zijn de interpretaties, beoordelingen, adviezen en conclusies onder andere gebaseerd op beschikbare informatie uit productinformatie van de verschillende anti-parasitaire middelen. Deze informatie is aangeleverd door de industrie. Tevens hebben we gebruik gemaakt van internationale wetenschappelijke bronnen. Indien daarvan gebruik werd gemaakt, is een verwijzing opgenomen naar de bron van die informatie. Van veel bestrijdingsmiddelen is informatie over hun ecotoxicologische eigenschappen echter schaars en niet zelden tegenstrijdig. Wij kunnen daarom niet in alle gevallen instaan voor de juistheid van deze informatie. Interpretaties (op niet analytisch gebied) zijn gedaan door de auteurs. WFSR is alleen betrokken bij de analyse en heeft geen bijdrage geleverd aan de interpretaties en conclusies. Verder heeft WFSR geen mening met betrekking tot deze interpretaties en conclusies op niet analytisch gebied.



Figuur 1 Ingeschaard vee op Brakelse Benedenwaard 2019 (foto: Natasha Nozdrina)

1 Inhoud

Anti-parasitaire middelen in mest van ingeschaard vee in natuurgebieden	2
Voorwoord	3
Dankbetuigingen	3
Disclaimer	3
Samenvatting	6
Lijst van afkortingen en speciale termen	6
1 Inleiding	8
2 Methodiek	8
2.1 Selectie van de terreinen	8
2.2 Monstername	9
2.3 Bewaring van de monsters	9
2.4 Chemische analyse	9
3 Resultaten	10
3.1 Deelnemende terreinen	10
3.2 Resultaten van chemische analyses	11
3.3 Eigenschappen van de gevonden anti-parasitaire middelen	11
3.3.1 Fenbendazol	12
3.3.2 Ivermectine en eprinomectine	12
4 Discussie	14
4.1 Fenbendazol	14
4.2 Ivermectine	14
4.3 Eprinomectine	14
4.4 Mogelijke rol van door technische redenen niet gevonden anti-parasitaire middelen	15
4.5 Conclusies	15
5 Adviezen	16
Referenties	17
Bijlagen	18
Bijlage 1. De lijst van gemeten anti-parasitaire middelen met de range van detectiegrenzen per stof (in microgram per kg vers monster)	18
Bijlage 2. Gevolgde methode van de verwerking en analyse van de monsters	19

Samenvatting

In zes Nederlandse provincies zijn 41 monsters genomen van mest van door boeren ingeschaard vee (38 monsters van runderen en 3 van schapen) in natuurgebieden. Deze monsters zijn geanalyseerd op de aanwezigheid van 51 verschillende anti-parasitaire middelen. In drie van de 41 monsters zijn anti-parasitaire middelen aangetroffen. Het betreft monsters van rundermest. Het gaat om de stoffen fenbendazol, ivermectine en eprinomectine, die zijn gevonden in concentraties van respectievelijk van 2500, 184 en 154 microgram per kg verse mest. Vooral van ivermectine en eprinomectine is op basis van literatuur geconcludeerd dat ze in de gevonden concentraties zeer schadelijk zijn voor mestfauna. Volgens de gebruiksaanwijzingen van deze middelen bedraagt de aanbevolen dosis 0,2-7,5 milligram per kg lichaamsgewicht van runderen en de werkingstermijn 7-180 dagen. De gevonden concentraties kunnen wijzen op een recente toediening vóór de inscharing van het vee in het natuurgebied.

Het is een gunstig teken dat de middelen alleen werden aangetroffen in een klein deel (7%) van de gebieden. Helaas is het wel zo, dat de meetmethoden van het laboratorium voor de anti-parasitaire middelen iets minder gevoelig waren (dan verwacht) om eventuele contaminatie met schadelijke, maar niet gemeten, concentraties in de overige gebieden uit te sluiten. Daarmee kan ook niet worden uitgesloten dat die een negatieve invloed op de entomofauna kunnen hebben gehad in die gebieden waar we in dit onderzoek geen anti-parasitaire middelen hebben gevonden. In toekomstig onderzoek dienen dus gevoeligere chemische analysemethoden met een lagere detectiegrens (LOQ) te worden gebruikt die nog beter zijn afgestemd op het doel van het onderzoek.

Om problemen als gevolg van de anti-parasitaire middelen in begraaide natuurgebieden te voorkomen zou het ook goed zijn;

- als er meer empirisch onderzoek (met mestfauna) komt naar de noodzakelijke veiligheidstermijnen tussen gebruik van anti-parasitaire middelen en het moment van inscharing van vee
- als er meer informatie ter beschikking komt van veehouders over alternatieven voor het gebruik van chemische anti-parasitaire middelen
- Chemisch onderzoek van mest te koppelen aan biologisch onderzoek van de mest, om te begrijpen of de verwachte verschillen in mestfauna daadwerkelijk opgetreden zijn in de gebieden met gecontamineerde mest



Figuur 2 Blauwtjes (*Lysandra bellargus*) op dassenpoep (foto Matthew Oates)

Lijst van afkortingen en speciale termen

Afkorting of speciale term	Betekenis
Anti-parasitair middel	Een middel dat parasieten in of op dieren bestrijdt. In sommige gevallen kunnen dit middelen zijn die ook als biocide, en/of als gewasbeschermingsmiddel zijn geregistreerd
EC50	De concentratie van een stof waarbij een niet-dodelijk effect bij 50% van een populatie testorganismen wordt verwacht
Inscharen	Vee inbrengen in een gebied
LOD (Detectiegrens)	Limit of Detection (onderste grens van wat aantoonbaar is)
LOQ	Limit of Quantification. Dit is de onderste grens van wat kwantificeerbaar is, dat wil zeggen dat met een gedefinieerde betrouwbaarheid de concentratie kan worden vastgesteld
Microgram	Het miljoenste deel van een gram (vaak aangeduid als μg)
Nanogram	Het miljardste deel van een gram
WFSR	Wageningen Food Safety Research

Inleiding

De insectenfauna op mest is van een ongekeerde verscheidenheid. Miljoenen jaren co-evolutie met herbivoren en roofdieren en hun voedselrijke mest heeft een vormen- en soortenrijkdom opgeleverd die zijn weerga niet kent. Deze rijkdom trekt weer andere dieren aan zodat complete voedselketens en -webben zijn te herleiden tot mest. Gezamenlijk zorgen die dieren ervoor dat de voedingsstoffen in de mest worden verwerkt en verspreid en door de vegetatie kunnen worden opgenomen. Toch is deze rijkdom niet vanzelfsprekend.

De afname van insecten in natuurgebieden van de laatste decennia en de impact daarvan op de hele levensgemeenschap baart menig natuurbeheerder zorgen. In het onderzoek van Buijs en Mantingh is zelfs in natuurgebieden in Gelderland een negatieve correlatie vastgesteld tussen aantallen mestkevers en de residuen van bestrijdingsmiddelen in de door runderen gegeten vegetatie (Buijs en Mantingh, 2020). Veel oorzaken van de achteruitgang van de biodiversiteit komen van buiten de gebieden, maar soms heeft de beheerder er zelf ook invloed op. In een aanzienlijk aantal natuurgebieden in Nederland laten beheerders vee van boerenbedrijven grazen. Soms is dat vee behandeld met ontwormingsmiddelen. Deze middelen doden echter niet alleen de parasieten in het verteringsstelsel van de dieren, maar schaden ook insecten die door hun mest worden aangetrokken. Met name de larven van vliegen en kevers ontwikkelen zich niet of onvoldoende in de met anti-parasitaire middelen besmette mest (Verdú et al., 2018, Niemann et al., 2018). Een onprettige bijkomstigheid van het gebruik van deze middelen voor natuurbeheerders is dat ze vaak een lange werkingsduur hebben van een of meerdere maanden.

Om dit gevaar voor de insectenfauna het hoofd te bieden, heeft de beheerder in veel gevallen de pachtcontracten met de boer aangescherpt. Uitdrukkelijk wordt gevraagd om deze middelen niet meer te gebruiken. Er wordt echter zelden tot nooit gemonitord. Eén van de redenen hiervoor is dat onderzoek naar een enkel mestmonster veel geld kost, tot vele honderden euro's per monster. Bovendien nemen laboratoria in de regel te kleine aantallen monsters niet in behandeling. Het risico dat zonder toezicht toch mest besmet wordt met ontwormingsmiddelen is daarmee reëel en vormt dus ook een mogelijk gevaar voor de gezondheid van de mestfauna. Ook is er bij achterwege blijven van monitoring geen inzicht in de omvang van het probleem.

ARK Natuurontwikkeling, aanjager van wilde natuur, beseft terdege dat met een bedreigde insectenfauna als basis voor menige voedselketen de vitaliteit van het hele ecosysteem op het spel staat. ARK Natuurontwikkeling heeft, als onafhankelijke natuurorganisatie, het initiatief genomen om hier verandering in te brengen. De analyse van anti-parasitaire middelen, welke voor ontwormen gebruikt worden, in mestmonsters is uitbesteed aan Wageningen Food Safety Research.

Landelijk werden natuurbeheerders benaderd om te inventariseren of er interesse was om op de door ons voorgestelde voorwaarden mee te doen met het meetprogramma.

2 Methodiek

2.1 Selectie van de terreinen

Door middel van de nieuwsbrief van de Vereniging van Bos- en Natuurterreineigenaren is een oproep gedaan of de lezers interesse hadden mee te doen met het onderzoek. Ook zijn alle beheerders van Natuurmonumenten over het onderzoek ingelicht.

2.2 Monstername

Aan de beheerders is gevraagd om in de eerste week na aankomst van het vee in het gebied de mestmonsters te nemen. Dit tijdstip van monstername vergroot de kans op het detecteren van de anti-parasitaire middelen. Voor onderzoek is een hoeveelheid van minimaal 100 gram nodig. Elke beheerder heeft van ARK Natuurontwikkeling een set verzegelbare plastic bakjes van 125 cc in een met tempex geïsoleerde doos opgestuurd gekregen. Deze bakjes zijn door de beheerders gevuld met verse mest en afgesloten. Op de deksel zijn door de beheerder de gegevens van het monster ingevuld:

- Datum van monstername
- Naam van het gebied
- GPS-coördinaten van de aangetroffen mest
- Naam inschaarder/pachter
- Naam beheerder
- Naam natuurorganisatie

De monsters betroffen mest van rund. Er waren een paar monsters bij van schapenmest. Dat is expliciet op de deksel vermeld.

Met de beheerders is afgesproken dat zij volledige inzage hebben in de onderzoeksresultaten voor zover die hun eigen gebieden betreffen. Ook zijn de beheerders op de hoogte gebracht van het feit dat de gegevens geanonimiseerd worden verwerkt in een rapport.

2.3 Bewaring van de monsters

De inhoud is vóór retourzending diepgevroren bewaard en per post teruggestuurd naar ARK Natuurontwikkeling. ARK heeft de monsters verzameld en wederom op -18°C bewaard alvorens ze in september 2020 in één batch bij Wageningen Food Safety Research (WFSR) af te leveren.

2.4 Chemische analyse

De analyse van de aanwezigheid van 51 anti-parasitaire middelen in de mestmonsters was uitbesteed aan Wageningen Food Safety Research (WFSR). De samenstelling van mestmonsters verschilt chemisch en fysiologisch van dier tot dier. Dit kan leiden tot verschillende detectiegrenzen per mestmonster. Hiervoor wordt tijdens de analyse per individueel mestmonster de detectiegrens bepaald, wanneer een monster negatief bepaald is. De lijst van gemeten anti-parasitaire middelen is opgenomen als bijlage 1. In die bijlage is ook van ieder anti-parasitair middel de gerealiseerde detectiegrens (LOQ) aangegeven. De gerealiseerde LOQ kan verschillen per mestmonster, door de aanwezigheid van storende stoffen. Daarom is in de meeste gevallen de minimale en maximale detectiegrens van elk anti-parasitaire middel aangegeven. De gevolgde methode van de verwerking en analyse van de monsters is aangegeven in bijlage 2.

3 Resultaten

3.1 Aantal terreinen waar monsters zijn genomen per provincie



Figuur 4. Monsteraantallen per provincie

Zoals in Figuur 4 kan worden gezien, zijn de meeste monsters (17) genomen in de provincie Drenthe gevolgd door Zuid-Holland met 10 monsters, 6 in Friesland, 4 in Limburg, 3 in Groningen en 1 in Noord-Holland. De zes beheerders van deze gebieden hebben in het totaal per post 41 monsters ingestuurd. Dit aantal monsters was voldoende om het onderzoek doorgang te laten vinden

3.2 Resultaten van chemische analyses

In het merendeel (38 van de 41 monsters) werden door het WFSR lab geen anti-parasitaire middelen gevonden boven de detectiegrens (LOQ). In 3 terreinen werden wel middelen boven de detectiegrens aangetoond. De aangetoonde middelen staan in Tabel 1.

Tabel 1. Aangetroffen anti-parasitaire middelen in mest van runderen in begraasde natuurgebieden

Naam gevonden anti-parasitaire middel	Terrein locatie	Gevonden concentratie (microgram per kg vers monster)
Fenbendazol	Drenthe	2500
Ivermectine	Zuid-Holland	184
Eprinomectine	Zuid-Holland	154

Door de verschillen tussen mestmonsters (chemisch en fysiologisch) varieerde de detectiegrens van de anti-parasitaire middelen per monster. Bij 12 van de 51 anti-parasitaire middelen bedroeg de hoogste detectiegrens 500 microgram per kg en bij 2 van de 51 middelen werd een detectiegrens van 5 microgram per kg behaald (zie bijlage 1). De gemiddelde detectiegrens van alle metingen (van alle stoffen) bedroeg 74 microgram per kg verse mest. De gemiddelde detectiegrens van de verschillende anti-parasitaire middelen onderling varieerde ook sterk. De laagste gemiddelde detectiegrens had 5-hydroxythiabendazol met 7 microgram per kg vers materiaal. De hoogste gemiddelde detectiegrens had toltrazuril met 295 microgram per kg vers materiaal.

3.3 Eigenschappen van de gevonden anti-parasitaire middelen

Een zeer belangrijke eigenschap van een anti-parasitaire middel is de werkingsduur. De veehouders willen veelal een lange werkingsduur en natuurbeschermingsorganisaties wensen juist een korte werkingsduur, die alleen de periode op stal dekt en uit het lichaam van het dier verdwenen is op het moment dat het vee wordt ingeschaard. In de gebruiksaanwijzingen staat van de meeste middelen een indicatie van de werkingsduur.

Tabel 2. Informatie uit gebruiksaanwijzingen van producenten met betrekking tot de gevonden anti-parasitaire middelen

Naam van anti-parasitaire middel en naam van fabrikant	Werkingsduur voor zover aangegeven (dagen na behandeling)	Aanbevolen dosis (mg/kg lichaamsgewicht) bij koe
Fenbendazol (Intervet Productions S.A)	90-180 dagen	5-7,5
Ivermectine (Merial/Boehringer Ingelheim GmbH)	Tot 28 dagen	0,2
Eprinomectine (Boehringer Ingelheim GmbH)	7- >28	1

3.4 Fenbendazol

Fenbendazol wordt vaak gebruikt voor de bestrijding van parasieten in het spijsverteringskanaal. De stof grijpt in op stofwisselingsprocessen en de aanmaak van eiwitten. Uiteindelijk stopt de celdeling. Het verschil in type bouwsteen van de eiwitten van parasieten ten opzichte van bijvoorbeeld die van zoogdieren zorgt er (volgens de producent) voor dat de werking alleen effect heeft op de eerste groep. Het is echter bekend dat ook vogels gevoelig zijn voor fenbendazol. Het toedienen van 47-60 mg/kg fenbendazol aan witruggieren (*Gyps africanus*) en Bengaalse gieren (*Gyps bengalensis*) leidde na een aantal dagen tot de dood (Bonar et al. 2002). De dieren hadden dodelijke gehalten urinezuur, een tekort aan witte bloedcellen en leden aan zware darmontstekingen, bacteriële hepatitis en bloedvergiftiging. Gieren hebben, vanwege hun manier van voedsel bemachtigen, te maken met veel soorten bacteriën in het aas. Waarschijnlijk door het falende immuunsysteem (na toediening van fenbendazol) konden deze bacteriën in de bloedbaan terechtkomen (Bonar et al. 2002). Ook bij duiven (*Columba livia domestica*) leidde het toedienen van 30 mg/kg gedurende vijf dagen tot de dood als gevolg van maagdarmonststekingen en het afsterven van de cryptcellen in de dunne darm (Gozalo et al. 2006). Een Amerikaanse witte pelikaan (*Pelecanus erythrorhynchos*) overleefde een dosis van 50 mg/kg niet als gevolg van maagontstekingen, afsterven van lymfoïd weefsel in de milt en cryptcelafsterving (Lindeman et al. 2016).

Verder is fenbendazol nog veel toxischer voor aquatische insecten, bijvoorbeeld voor watervlooien. De EC50 van *Daphnia magna* is zelfs 16,5 microgram per liter water (Su Jin Oh et al., 2006). Voor de invloed van deze stof op vertegenwoordigers van mestfauna hebben wij geen literatuurgegevens gevonden.

3.4.1 Ivermectine en eprinomectine

Naar avermectines, waar ivermectine en eprinomectine voorbeelden van zijn, is uitgebreid onderzoek gedaan. Liebig et al (2010) beschreef een breed spectrum aan ecologische effecten die optreden vanaf 1,2 **nanogram** per liter in water (bij *Daphnia magna*) en vanaf 1 microgram per kg verse mest bij de strontvlieg (*Scathophaga stercoraria*). Liebig et al (2010) beschrijft goed dat heel veel organismen erg gevoelig zijn voor deze stof, maar ook dat de verschillen tussen de verschillende organismen substantieel is. Avermectines werken dus niet alleen tegen parasieten, maar hebben ook grote effecten op insecten in de mest. Mestkeverlarven, die een belangrijke rol vervullen bij de omzettingen van dierlijke mest, hadden in mest van met ivermectine behandelde dieren de helft van het gewicht van die in mest van onbehandelde dieren. Dit heeft tot gevolg dat de mest slecht wordt afgebroken en de voedingsstoffen in de onverwerkte mest niet ter beschikking komen aan de vegetatie (Verdú et al. 2018). Gedurende de tijd dat mest op het land ligt, kunnen plantenvoedingsstoffen wel verloren gaan door uitspoeling, afspoeling of door vervluchtiging van bijvoorbeeld ammoniak. Afwezigheid van mestfauna door aanwezigheid van avermectines kan dus leiden tot een hogere milieubelasting.



Figuur 5 Koeienvlaai van niet met ontwormingsmiddelen behandeld vee. (foto Jeroen Helmer)



Figuur 6. Actieve mestfauna op rundermest met onder andere de mestzwemtor (*Sphaeridium scarabaeoides*) in Zwitserse alpenweide (foto Jelmer Buijs)

4 Discussie

In drie van de genomen monsters werden anti-parasitaire middelen gevonden. De gemiddelde LOQ van alle metingen bedroeg 74 microgram per kg verse mest. Dat is veel hoger dan de 1-3 microgram per kg mest die in 2018 door Rikilt (de voorloper van WFSR) werd behaald in rundermest en varkensmest in het onderzoek van Buijs en Mantingh (bijlage 4 in Buijs & Mantingh, 2019). Bovendien vielen de detectiegrenzen in het plan met een gemiddelde van 14 microgram per kg verse mest hoger uit in de praktijk. De hogere detectiegrenzen volgen uit de verschillen in chemische en fysiologische samenstelling tussen mestmonsters. Ook het vochtgehalte van de monsters kan een rol spelen. In het geval van het onderzoek van Buijs en Mantingh bedroeg het gemiddelde gehalte droge stof in de mest 18,3%. In de door ARK onderzochte monsters is het exacte gehalte droge stof niet bepaald, maar naar verwachting lag dat in dezelfde orde van grootte, omdat het om verse, vochtige mest ging. Aangezien in de meeste onderzoeken enkele dagen tot enkele weken na toediening van een middel over het algemeen hogere concentraties gemeten worden dan 74 microgram per kilo verse mest, mag worden aangenomen dat er, buiten de drie positief geteste monsters, over het algemeen geen toediening van de onderzochte middelen heeft plaatsgehad in die periode. De betekenis van de gevonden concentraties zal hieronder worden besproken.

4.1 Fenbendazol

De concentratie fenbendazol in één van de mestmonsters uit Drenthe was 2500 microgram/kg. Hoewel de gevoeligheid voor fenbendazol bij mestinsecten niet bekend is, is dat wel het geval bij vogels (zie 3.2.1). Echter, traden er bij vogels pas toxicologische effecten op na een directe toediening van 30000 tot 60000 microgram/kg fenbendazol (zie H 3.3.1). Onder andere Strong et al (1996) heeft in proeven vastgesteld dat de stof geen invloed had op de ontwikkeling van Coleoptera

zelf. Het kan echter ook zo zijn dat deze stof wel wordt opgenomen door mestkeverlarven, maar dat zij er zelf geen last van hebben. Aangezien mestkeverlarven voedsel zijn voor een groot aantal vogelgroepen zoals kraaien, lijsters, kraanvogels en steltlopers, lopen deze vogels mogelijk wel risico. Mogelijke correlaties tussen fenbendazol in dierlijke mest en vogelpopulaties dienen dus verder onderzocht te worden.

Deze stof heeft ook nog het vermogen de aquatische voedselketen grondig te verstoren, omdat watervlooien daarvan een essentieel onderdeel zijn. Gezien deze voorgaande gegevens is het duidelijk dat de gevonden concentratie van 2500 microgram dus invloed kan hebben op het aquatische ecosysteem (zie H 3.3.1), als de mest daar direct of indirect in terecht komt.

4.2 Ivermectine

Het mestmonster dat positief testte op ivermectine is drie dagen na inscharing genomen. De concentratie 184 microgram/kg ivermectine is ruim anderhalve keer de hoeveelheid waarvan is aangetoond dat deze leidt tot (meer dan) halvering van aantallen en biomassa van de keverfauna in mest (Verdú et al, 2018). De gevonden concentratie ligt bovendien 184 maal boven de concentratie die al effect heeft op de strontvlieg (*Scathophaga stercoraria*). Indien de mest in het water terecht komt, zijn de gevolgen voor de watervlooien nog veel sterker, omdat de gevonden concentratie 920.000 maal hoger ligt dan waarop al ecologische effecten zijn waargenomen op watervlo (*Daphnia magna*). De oplosbaarheid van ivermectine in water is weliswaar slecht met 4 mg per liter (Temple and Smith, 1992), maar groot genoeg om toch veel effect te hebben.

4.3 Eprinomectine

Het mestmonster waarin eprinomectine is aangetoond is drie dagen na inscharing genomen. Aangetoond is dat vleesvliegen, latrinevliegen, echte vliegen, motmuggen, wapenvliegen, mestzwemtorren, veervleugelkevers, mestkevers en kortschildkevers schade kunnen ondervinden. (Niemann et al. 2018).

De werkingsduur van eprinomectine is volgens Niemann et al. (2018) langer dan 140 dagen. Dat is vijf maal langer dan wat er in de gebruiksaanwijzing staat vermeld (Tabel 2). In het onderzoek van Niemann et al. namen de concentraties in de mest eerst toe tot 184 microgram per kg (op dag 14) en zakten later (na 140 dagen) tot 27 microgram per kg versgewicht. De detectielimieten voor deze stof bedroeg in het WFSR laboratorium 10-154 microgram per kg. In het door ons ingestuurde mestmonster bedroeg het gehalte dus net iets boven de LOQ van 154 microgram (vandaar dat de stof kon worden aangetoond). Het is waarschijnlijk dat kort na inscharing de gehalten onder de LOQ van 154 microgram zullen hebben gelegen. In dat geval zal de vraag of het laboratorium de stof nog zou kunnen detecteren dus van het individuele monster afgehangen. Aangezien de gerealiseerde detectiegrens van deze stof varieerde van 10-154 microgram per kg, was er een kans dat het in dit onderzochte gebied ook later nog had kunnen worden aangetoond. De periode van 140 dagen na welke Niemann et al. nog residuen heeft gemeten, geeft aan dat de informatie in de bijsluiters van de producent waarin een werkingsduur van >28 dagen is vermeld niet zinvol is voor een beoordeling van de risico's van dit middel voor mestfauna.

4.4 Mogelijke rol van door technische redenen niet gevonden anti-parasitaire middelen

De werking van de drie gevonden anti-parasitaire stoffen op vertegenwoordigers van de mestfauna en waterfauna begint al bij veel lagere concentraties dan de detectielimiet (LOQ), zoals onze beperkte literatuurgegevens aangeven. Het kan dus niet worden uitgesloten dat nog meer ingeschaarde dieren mest produceren met ecologisch relevante concentraties van anti-parasitaire middelen.

4.5 Conclusies

Het uitgevoerde onderzoek heeft aangetoond:

- Dat een deel van de terreinbeheerders interesse heeft in de problematiek van de anti-parasitaire middelen (H 3.1)
- Het uitvoerbaar is om met terreinbeheerders testprogramma's op te zetten en monsters te laten insturen (H 3.1)
- Dat in 3 monsters substantiële doses anti-parasitaire middelen aanwezig waren (H 3.1)
- Dat de gebruikte chemische analysemethode niet gevoelig genoeg was om in de overige monsters de aanwezigheid van gevaarlijke concentraties anti-parasitaire middelen uit te sluiten (H 4.4)
- Dat men ervan uit mag gaan dat over het algemeen in de overige monsters binnen enkele weken vóór inscharing van het vee geen van de onderzochte middelen is toegepast.
- Dat de gebruiksaanwijzingen op de bijsluiters van de producenten van anti-parasitaire middelen onvoldoende houvast bieden om werkelijk goed gefundeerde veiligheidstermijnen voor mestfauna vast te stellen na gebruik van anti-parasitaire middelen (H 4.3)

5 Adviezen

Met het aantreffen van anti-parasitaire middelen in een aantal mestmonsters is de noodzaak van monitoring op deze middelen in mest van in natuurgebieden ingeschaard vee aangetoond.

Aangeraden wordt dan ook om:

- Deze monitoring voort te zetten en op te schalen. In toekomstig onderzoek zou gestreefd moeten worden naar het nemen van monsters van minimaal 20 mesthopen van iedere kudde, waarvan een mengmonster kan worden gemaakt. Door chemische analyse van de mengmonsters zullen de resultaten van het onderzoek de situatie van de gehele kudde beter weerspiegelen dan in het geval van minder (sub)monsters
- Meer en betere voorlichting te geven aan de eigenaren van het ingeschaarde vee over de risico's van het gebruik van anti-parasitaire middelen voor het ecosysteem. Ook dienen de alternatieven voor de anti-parasitaire middelen beter bekend te worden gemaakt.
- De reële omvang van het probleem van contaminatie van natuurterreinen met anti-parasitaire middelen nog beter te bepalen. Daarvoor dienen nog betere analysemethoden van die stoffen te worden ingezet
- Nader onderzoek te laten verrichten naar veiligheidstermijnen voor mestfauna na het gebruik van anti-parasitaire middelen bij vee
- Chemisch onderzoek van mest te koppelen aan biologisch onderzoek van de mest, om te begrijpen of de verwachte verschillen in mestfauna daadwerkelijk optreden in de gebieden met mest waarin anti-parasitaire middelen aanwezig zijn
- Inzicht te krijgen in de mate van besmetting van mest in natuurgebieden op landelijk niveau. Daarvoor zou het onderzoek opgeschaald kunnen worden naar nog meer locaties (ook in de nog niet bij het onderzoek betrokken provincies) en zouden ook meer natuurorganisaties bij het onderzoek betrokken kunnen worden
- In toekomstig onderzoek naar de invloed van anti-parasitaire middelen dient ook rekening te worden gehouden met het feit dat de mestfauna ook kan worden beïnvloed door belasting met pesticiden uit de landbouw en met andere chemische stoffen die al of niet via rivierwater zijn aangevoerd (bijvoorbeeld dioxines en PCB's)

Referenties

Bonar C., Lewandowski A., and J. Schaul J., 2003. Suspected fenbendazole toxicosis in 2 vulture species (*Gyps africanus*, *Torgos tracheliotus*) and Marabou Storks (*Leptoptilos crumeniferus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery* 17:16–19.

Buijs J. & Mantingh M. 2020. Inventarisatie van de aanwezigheid en risico's van bestrijdingsmiddelen in begraasde natuurgebieden in Gelderland; Toxicologische risico's voor mestkevers. Buijs Agro-Services. 166 blz.

Gozalo A. S., Schwiebert R.S., and Lawson G.W., 2006. Mortality associated with Fenbendazole administration in pigeons (*Columba livia*)

Niemann. C., Floate. K.D., Duering. R.A., Heinrich. A.P., Young. D.K., Schaefer. D.M., 2018. Eprinomectin from a sustained release formulation adversely affected dung breeding insects. *PLOS ONE* | <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201074> August 6, 2018

Liebig et al. 2010. Environmental Risk Assessment of Ivermectin: A Case Study. *Integrated Environmental Assessment and Management* — Volume 6, Supplement 1—pp. 567–587 2010 SETAC. (www.interscience.wiley.com)

Lindemann D. Eshar M, David, Nietfeld, Jerome C., and Kim, In Joong. 2016. Suspected fenbendazole toxicity in an American white pelican (*Pelecanus erythrorhynchos*)

Strong L., Wall R., Woolford A. & Djeddour D. 1996. The effect of faecally excreted ivermectin and fenbendazole on the insect colonisation of cattle dung following the oral administration of sustained-release boluses. *Veterinary Parasitology*, Volume 62, Issues 3–4, April 1996, Pages 253-266
[https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00890-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00890-X)

Su Jin Oh et al, 2006. Ecological hazard assessment of major veterinary benzimidazoles: acute and chronic toxicities to aquatic microbes and invertebrates. <https://doi.org/10.1897/05-493R.1>

Verdú J.R., Lobo J.M., Sánchez-Piñero F., Gallego B., Numa C., Lumaret J.P., Cortez V., Ortiz A.J., Tonelli M., García-Teba J.P., Rey A., Rodríguez A., Durán J.. 2018. Ivermectin residues disrupt dung beetle diversity, soil properties and ecosystem functioning: An interdisciplinary field study

Waterforum, 2020. Directeur RIWA-Rijn pleit voor reductiedoelen chemische stoffen in de Rijn. <https://www.waterforum.net/directeur-riwa-rijn-pleit-voor-reductiedoelen-chemische-stoffen-in-de-rijn/>

Temple and Smith, 1992. Ivermectine. WHO.
[http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/ivermect.htm#PartTitle:14.%20AUTHOR\(S\),%20REVIEWER\(S\),%20DATE\(S\)%20\(INCLUDING%20UPDATES\),%20COMPLETE%20%20%20%20%20ADDRESS\(ES\)](http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/ivermect.htm#PartTitle:14.%20AUTHOR(S),%20REVIEWER(S),%20DATE(S)%20(INCLUDING%20UPDATES),%20COMPLETE%20%20%20%20%20ADDRESS(ES))

Bijlagen

Bijlage 1. De lijst van gemeten anti-parasitaire middelen met de range van detectiegrenzen per stof (in microgram per kg vers monster)

Naam anti-parasitaire middel	Detectiegrenzen
Albendazol	10-500
Albendazolsulfoxide	10-20
Albendazolsulfon	10-20
Albendazolaminosulfon	15-30
Fenbendazol	15-200
Fenbendazolsulfoxide (=Oxfendazol)	10-30
Fenbendazolsulfon	15-40
Flubendazol	15-60
Aminoflubendazol	30-200
Hydroxyflubendazol	30-80
Levamisol	5-40
Mebendazol	30-150
Aminomebendazol	30-200
Hydroxymebendazol	30-80
Oxibendazol	10-30
Thiabendazol	10-20
5-Hydroxythiabendazol	5-10
Triclabendazol	70-500
Triclabendazolsulfoxide	20-70
Triclabendazolsulfon	20-70
Ketotriclabendazol	100-500
Bithionol	100-500
Bromoxnyl	20-50
Clorsulon	15-40
Closantel	100-500
Haloxon	60-500
loxnyl	25-80
Morantel	15-40
Niclosamide	15-500
Nitroxinil	40-300
Oxantel	15-40
Oxyclozanide	15-400
Praziquantel	20-250
Pyrantel	15-40
Rafoxanide	25-500
Salicylanilide	10-20
Nitro-3-(trifluoromethyl)phenol	10-30
Moxidectine	100
Emamectine	5-500
Abamectine	15-250
Ivermectine	20-250
Eprinomectine	10-154
Doramectine	25-400
Ponazuril	50-500
Toltrazuril	60-500
Deltamethrin	niet te bepalen
Cypermethrin	niet te bepalen
Dicyclanil	25-250
Diazinon	25-90
Monepantelsulfon	25-200
Foxim	70-500

Bijlage 2. Gevolgde methode van de verwerking en analyse van de monsters

Analyse van anti-parasitaire middelen in mest

Voor de kwantificering wordt er gebruik gemaakt van een kalibratielijns (0-500 µg/kg), welke geprepareerd wordt in blanco mest (intern aanwezig).

Van elk te analyseren monsters, wordt 2 gram mest in tweevoud ingewogen. Aan slechts één van deze 2 buizen wordt 200 µl mengstandaardoplossing (1 mg/l), welke de te analyseren anti-parasitaire middelen bevat, toegevoegd. Hierdoor is de concentratie van de anti-parasitaire middelen in de mest omgerekend 100 µg/kg is.

Aan alle buizen wordt een interne standaardoplossing toegevoegd, zodat de concentratie in elk monster 100 µg/kg is. Na de toevoeging van de standaardoplossingen worden de buizen 20 minuten met rust gelaten zodat deze in de mest kunnen trekken.

Aan alle buizen met daarin de mestmonsters wordt 5 ml acetonitril (ACN) toegevoegd en voor 15 minuten gemengd in een head-over-head apparaat. De buizen worden gecentrifugeerd bij 3500g en de bovenste laag wordt gebruikt voor dispersieve solid phase extractie (200 mg Primary-secondary amine (PSA)), om het extract te zuiveren van matrix interferenties. Het eluaat wordt geconcentreerd door in te dampen bij 55 °C tot droog, en her opgelost in een 50% methanol oplossing. De extracten worden overgebracht in een vial voor LC-MS/MS analyse.

Het LC-MS systeem bestaat uit een Waters Acquity LC en een AB SCIEX QTRAP 6500 massaspectrometer. De gebruikte analytische kolom voor de analyse is een Acquity UPLC HSS T3 (1,8 µm, 100*2,1 mm). Mobiele fase A bestaat uit 2 mM amoniumformiaat/0.016% mierenzuur/water en mobiele fase B uit 2 mM amoniumformiaat/0.016% mierenzuur/methanol. Een analyserun duurt in totaal 12 minuten, waarbij de mobiele fase flow op 0,4 ml/min en de kolomoven op een temperatuur van 40 °C staan ingesteld. De mobiele fase gradiënt die gebruikt wordt: 0-1 minuut constant op (95%A, 5%B), 1-6 minuten lineair naar (0%A, 100%B), 6-10.5 minuten constant op (0%A, 100%B), 10.5-10.8 minuten lineair naar (95%A, 5%B), 10.8-12 minuten constant op (95%A, 5%B).