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

Veehouderij en gezondheid omwonenden (VGO-III)

Actualisatie epidemiologische studies 2014-2019
Onderzoek naar longontstekingen rond geitenhouderijen 2018-2024



Veehouderij en gezondheid omwonenden (VGO-III)

Actualisatie epidemiologische studies 2014-2019
Onderzoek naar longontstekingen rond geitenhouderijen 2018-2024

RIVM-rapport 2024-0167

Colofon

© RIVM 2024
Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding:
Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

Coördinatie van het onderzoek en eindredactie
Joke van der Giessen (RIVM)
Thomas Hagenaars (WUR)
Joris IJzermans (NIVEL)
Rianne van Gageldonk-Lafeber (RIVM)
Lidwien Smit (UU)

Hoofdauteurs
Joke van der Giessen (RIVM); Thomas Hagenaars (WUR); Myrna de Rooij (UU); Beatrice Cornu Hewitt (UU); Aniek Lotterman (UU); Inge Roof (RIVM); Mari-Lee Odendaal (RIVM); Adam Meijer (RIVM); Jan Verkaik (WUR); Albert Winkel (WUR); Joris IJzermans (Nivel); Christos Baliatsas (Nivel); Debby Bogaert (UMCU); Rianne van Gageldonk-Lafeber (RIVM); Alex Bossers (WUR, UU); Lidwien Smit (UU)

Onderzoekers
Lidwien Smit; Warner van Kersen; Aniek Lotterman; Myrna de Rooij; Beatrice Cornu Hewitt; Inge Wouters; Anke Huss; José Jacobs; Dick Heederik (ZonMW-Top) (UU); Rianne van Gageldonk-Lafeber; Inge Roof; Adam Meijer; Ingmar Janse; Rozemarijn van der Plaats; Marieke Opsteegh; Mari-Lee Odendaal; Wim van der Hoek; Lisa Wijsman; Gabriel Goderski; Bas van der Veer, Jil Kocken, Trung Bui, Lenny Hogerwerf; Pim Post; Kim Freriks; Joke van der Giessen (RIVM); Mei Ling Chu; Debby Bogaert (ZonMW-Top) (UMCU); Joris IJzermans; Christos Baliatsas; Jenny Gerbecks; Peter Spreeuwenberg; Michel Dückers (Nivel); Thomas Hagenaars; Alex Bossers; Wouter Lokhorst; Jan Verkaik; Albert Winkel; Wim van der Poel; Marcel Hulst; Paul Stege; Martien Bokma; Manon Swanenburg; Gert Jan Boender; Ronald Petie; Catharine McCarthy; Hendrik Jan Roest (WUR); Bas Oude Munnink; Leonard Schule; Marion Koopmans (ZonMW-Top) (ErasmusMC)

Contact
Joke van der Giessen, programmaleider
Centrum voor Zoönosen en Omgevingsmicrobiologie, RIVM
joke.van.der.giessen@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van het ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport en het ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur, met subsidie van ZONMW TOP en het Longfonds in het kader van Veehouderij en Gezondheid Omwonenden.

Publiekssamenvatting

Veehouderij en gezondheid omwonenden

Actualisatie epidemiologische studies 2014-2019
Onderzoek naar longontstekingen rond geitenhouderijen 2018-2024

In gebieden met veel veehouderijen, zoals in Noord-Brabant en Noord-Limburg, hebben meer mensen een longontsteking dan in gebieden met minder veehouderijen. De kans op een longontsteking blijkt vooral hoger te zijn als mensen binnen 500 tot 2000 meter van een geitenhouderij wonen.

Dit bleek uit eerder onderzoek naar het verband tussen veehouderij en de gezondheid van omwonenden (VGO), en is nu bevestigd. In dit derde VGO-onderzoek blijkt deze conclusie ook te gelden voor de provincies Utrecht, Overijssel en Gelderland. Daarna is bij verschillende groepen mensen (patiënten, omwonenden en geitenhouders) en op geitenbedrijven gekeken wat de oorzaken hiervan kunnen zijn.

Meer dan 30 verschillende bacteriën waarvan bekend is dat ze bij mensen een longontsteking kunnen veroorzaken, kwamen voor in de stallucht van minstens 25 procent van de onderzochte geitenbedrijven. Van deze bacteriën zijn er 23 gevonden bij patiënten, omwonenden, geitenhouders en/of in de buitenlucht rondom deze bedrijven. Veel van de bacteriën in de stallucht kwamen ook voor in de stalmest en het strooisel waar de geiten in de stal op lopen.

Het is moeilijk te bewijzen dat de longontstekingen bij mensen rondom geitenhouderijen direct worden veroorzaakt door de bacteriën uit de geitenstallen. Wel zijn de gevonden bacteriën een mogelijke verklaring voor het feit dat de longontstekingen vaker voorkomen. Dat komt doordat ze zowel bij mensen, in de geitenstallen als in de omgeving zijn gevonden.

In dit onderzoek is op verschillende manieren onderzocht of geitenhouderijen de bron zijn van een of meer ziekteverwekkers (bacteriën, schimmels of virussen) die longontsteking kunnen veroorzaken. Eerst is in de wetenschappelijke literatuur onderzocht welke ziekteverwekkers bij geiten voorkomen en bij mensen longontsteking kunnen veroorzaken. Daarna is bij patiënten, omwonenden en geitenhouders gekeken welke ziekteverwekkers zij bij zich droegen. In de stallen van de geitenbedrijven zijn onder andere mest, strooisel en lucht onderzocht om te kijken of de ziekteverwekkers daar zijn gevonden. Ook de buitenlucht bij woningen rond geitenstallen is onderzocht.

Het RIVM, de Universiteit Utrecht, Wageningen Universiteit en het Nivel hebben het VGO-onderzoek gedaan.

Kernwoorden: *VGO-III, geitenhouderij, micro-organismen, longontsteking, bacteriën, geiten, veehouderij, gezondheid*

Synopsis

Livestock farming and the health of local residents

Update epidemiological studies 2014-2019
Research into pneumonia around goat farms 2018-2024

In areas with intensive livestock farming, such as North Brabant and the north of Limburg, more people are diagnosed with pneumonia by their general practitioner than in areas with less intensive livestock farming. It has been shown that the risk of contracting pneumonia is higher especially for people who live between up to 500 and up to 2,000 metres away from goat farms.

This finding of an earlier study into associations between livestock farming and the health of neighbouring residents (Veehouderij en Gezondheid Omwonenden, VGO) has again been confirmed. In addition, the current, third VGO study has revealed that the finding also applies to the provinces of Utrecht, Overijssel and Gelderland. Subsequently, research was conducted among various groups of people (pneumonia patients, local residents and goat farmers) and on goat farms to find possible causes behind this finding.

The air in the stables at the investigated goat farms was found to contain a number of bacteria that are known to be potential causes of pneumonia in people. Over thirty of these bacteria were common, having been detected on at least 25 per cent of the goat farms. Of these bacteria, 23 were also detected among one or several of the investigated groups of people and a significant portion were detected in outdoor air surrounding homes near goat farms. Many of the bacteria in the stable air could be traced back to the use of a deep litter system, whereby goats stand on layers of manure and bedding.

While it is difficult to prove that the cases of pneumonia in people living near goat farms were directly caused by bacteria from those goat farms, the found pathogenic bacteria may provide an explanation for the higher incidence of pneumonia. This is because they were found among people, at goat farms and in the air.

This study consisted of various types of investigations to find out whether goat farms could be the source of one or more pathogens (bacteria, fungi or viruses) that can cause pneumonia. First, scientific literature research was conducted to identify which goat-borne pathogens can cause pneumonia in people. Next, an investigation was conducted among patients, local residents and goat farmers to identify which pathogens they carried, if any. In goat farms, the researchers examined the manure, bedding, air and a number of other factors for traces of relevant pathogens. They also examined the outdoor air surrounding homes near goat farms.

This VGO study was carried out by the Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM), Utrecht University, Wageningen University and the Netherlands Institute for Health Services Research (Nivel).

Keywords: *VGO-III, goat farming, micro-organisms, pneumonia, bacteria, goats, livestock farming, health*

Voorwoord

Eerdere epidemiologische studies uitgevoerd in Intensieve Veehouderij en Gezondheid (IVG) en Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (VGO-I en VGO-II) lieten zien dat longontsteking in alle onderzochte jaren tussen 2007 en 2013 meer voorkwam in het IVG/VGO- onderzoeksgebied (delen van de provincies Noord-Brabant en Limburg), dan in controlegebieden waar een minder hoge dichtheid is aan veehouderij. Daarnaast kwamen in het onderzoeksgebied longontstekingen vaker voor bij personen die in de buurt van een geitenhouderij wonen. Het is niet duidelijk wat de oorzaak van deze longontstekingen is. Huisartsen behandelen in het geval van een klinisch gediagnosticeerde longontsteking protocollair en aanvullende microbiologische diagnostiek wordt alleen in zeer bijzondere gevallen uitgevoerd. Bij meer dan 80 procent van de longontstekingen die bij de huisarts worden vastgesteld, is geen oorzaak bekend.

Het VGO-III-onderzoek is een vervolg op het VGO-I-onderzoek uit 2016 en de aanvullende VGO-II-studies uit 2017. De aanbevelingen uit deze eerdere studies zijn in VGO-III uitgewerkt.

Evenals VGO I-II is VGO-III uitgevoerd door het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en het Milieu (RIVM), het Institute for Risk Assessment Sciences van de Universiteit Utrecht (UU-IRAS), het Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg (Nivel) en Wageningen Universiteit en Research (Wageningen Bioveterinary Research en Wageningen Livestock Research).

Dit rapport beschrijft de resultaten van het VGO-III-onderzoek. Dit omvat zowel de actualisatie van de epidemiologische analyses van huisartsgegevens, waarin wordt onderzocht of de in VGO-I en VGO-II gevonden verbanden ook in latere jaren en in andere regio's aanwezig waren, als onderzoek naar de mogelijke oorzaken van de longontstekingen bij omwonenden van geitenhouderijen. Dit is breed onderzocht door onderzoek bij patiënten, die bij de huisarts kwamen met longontsteking, bij controlepersonen, geitenhouders en werknemers op geitenhouderijen, en onderzoek op geitenbedrijven en in de leefomgeving naar de mogelijke oorzaak van het verband met wonen in de buurt van een geitenhouderij.

Vanuit de deelnemende kennisinstituten lopen ook andere initiatieven die raakvlakken hebben met de VGO-III-projecten. UU en WUR zijn partner van het Netherlands Center for One Health (NCOH), dat een AIO financierde uit het metagenomics AIO-programma 2017-2021. Het IRAS verkreeg een TOP-ZonMw-subsidie samen met het UMC Utrecht en het ErasmusMC, waaruit de kosten van een deel van de VGO-III-laboratoriumanalyses voor het onderzoek onder controlepersonen en patiënten met een longontsteking betaald werden, en een persoonlijke NWO-ASPASIA-subsidie (015.014.067) waarmee een AIO deels werd gefinancierd.

Het onderzoek werd gecoördineerd door een stuurgroep, zoals bij het eerdere VGO-I- en -II-onderzoek. Joke van der Giessen (RIVM) was voorzitter en programmaleider. Overige leden van de stuurgroep waren Lidwien Smit (UU), Rianne van Gageldonk-Lafeber (RIVM), Thomas Hagenaars (WUR) en Joris IJzermans (Nivel). Programmaondersteuner Arieke Docters van Leeuwen en communicatieadviseur Ragna Opten (beiden RIVM) maakten ook deel uit van de stuurgroep.

De opdrachtgevende ministeries Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS) en Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur (LVVN) stelden een 'opdrachtgeversoverleg' in. Tweemaal per jaar werden de deelnemers hiervan (vertegenwoordigers van de provincies Overijssel, Gelderland en Noord-Brabant; de brancheverenigingen Land- en Tuinbouw Organisatie Nederland (LTO) en de werkgroep Veehouderij en Gezondheid van de Gemeentelijke Gezondheidsdienst (GGD)) door de onderzoekers op de hoogte gesteld van resultaten, plannen en wijzigingen in de planning. Genoemde wijzigingen betroffen vooral een verlenging van de onderzoeksperiode die noodzakelijk werd door de gevolgen van de COVID-19-pandemie.

De stuurgroep VGO

Samenvatting

Inleiding

Eerdere epidemiologische studies binnen het onderzoek Intensieve Veehouderij en Gezondheid (IVG) en Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (VGO I-II) lieten zien dat longontsteking in de onderzochte jaren 2007-2013 meer voorkwam in het zuidoosten van Nederland (VGO-onderzoeksgebied, delen van de provincies Noord-Brabant en Limburg), dan in controlegebieden met een minder hoge dichtheid aan veehouderij. Daarnaast werd binnen het VGO-onderzoeksgebied onder andere een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 1.500 tot 2.000 meter van een geitenhouderij. Dit was aanleiding voor het starten van het VGO-III-onderzoek, waarin werd begonnen met het actualiseren van de epidemiologische studies naar longontsteking in relatie met woonafstand tot geitenhouderijen voor de jaren na 2013 in het VGO-gebied. Vervolgens werd onderzocht of het verband ook aanwezig was in andere regio's. Nadat dit het geval bleek te zijn, werd onderzoek uitgevoerd naar van geitenhouderijen afkomstige ziekteverwekkers als mogelijke oorzaak van dit verband.

Epidemiologisch onderzoek

Opzet

In VGO-III zijn de epidemiologische analyses van huisartsengegevens voor het VGO-gebied geactualiseerd voor de jaren 2014-2016 en 2017-2019. In de periode 2014-2019 is aanvullend gekeken of sprake is van seizoenseffecten of andere temporele patronen in het risico op longontsteking, zowel in veehouderij-dichte regio's als specifiek rond geitenhouderijen. Daarnaast zijn de analyses van huisartsengegevens ook uitgevoerd in andere provincies in Nederland, namelijk regio's in Utrecht, Gelderland, en Overijssel (UGO) voor de jaren 2014-2017.

Resultaten

De epidemiologische studies die in VGO-III zijn uitgevoerd, ondersteunen een continue associatie tussen het vaker voorkomen van longontsteking en het wonen in veehouderij-dichte gebieden. Dit resultaat is robuust voor dertien jaren. De gebiedsvergelijking werd ook uitgevoerd in het UGO-gebied in 2014-2017, met een vergelijkbare uitkomst. Dit maakt het aannemelijk dat het verband wat betreft geitenhouderijen voor heel Nederland geldt. De eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen in de nabijheid van een geitenhouderij (binnen een straal van 500-2000 meter) werden bevestigd. Verder bleek dat de verhoogde incidentie van longontsteking rond geitenhouderijen niet maand- of seizoensgebonden was, maar het hele jaar door aanwezig.

Omdat in de IVG-, VGO-I- en VGO-II-studies ook een verband werd gevonden tussen longontsteking en het wonen binnen 1.000 meter van een pluimveehouderij, is ook hier in VGO-III verder onderzoek naar gedaan. De VGO-III-studies ondersteunen de eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen binnen 1.000 meter afstand van een pluimveehouderij niet: voor de onderzochte jaren tussen 2014 en 2019 in het VGO-gebied werd geen, of alleen een gering, verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 1.000 meter van een pluimveehouderij.

Opzet van de studies naar de oorzaak van longontstekingen rond geitenhouderijen

Er zijn verschillende studies opgezet om de mogelijke ziekteverwekker(s) te achterhalen die de longontstekingen bij mensen rond geitenhouderijen kan (kunnen) veroorzaken. Hoofdhypothese was dat de ziekteverwekker die de longontstekingen veroorzaakt, afkomstig is van een bron op geitenhouderijen.

Een tweede, alternatieve, hypothese was dat blootstelling aan luchtverontreiniging vanuit de geitenhouderij, zoals stof of endotoxine, ervoor kan zorgen dat omwonenden een hoger risico hebben op longontsteking. Deze alternatieve hypothese werd al wel bij het begin van het onderzoek minder aannemelijk geacht, in verband met veel lagere berekende stofemissies van geitenhouderijen in vergelijking met bijvoorbeeld pluimveehouderijen. Voor de volledigheid is deze hypothese hier wel opnieuw tegen het licht gehouden, met verbeterde emissieberekeningen gebruikmakend van luchtmetingen uit dit onderzoek.

Als eerste stap voor onderzoek naar de hoofdhypothese is een literatuurstudie uitgevoerd. In drie fasen is de wetenschappelijke literatuur geanalyseerd. In de eerste

fase is onderzocht welke micro-organismen kunnen voorkomen bij geiten. In de tweede fase is onderzocht of deze micro-organismen longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken. Dit leverde een lijst op van 96 micro-organismen: 76 bacteriën, 7 schimmels, 6 protozoa en 7 virussen. In de derde fase is deze lijst geprioriteerd op basis van bewijslast in de literatuur en voorgelegd aan een expertpanel die gevraagd is of de micro-organismen een mogelijke oorzaak kunnen zijn van de verheffing van longontsteking. Deze lijst van 96 micro-organismen was vervolgens de input voor de gezondheids- en geitenbedrijvenstudies.

Methoden

Gezondheidsstudies

Voor de gezondheidsstudies zijn bij verschillende groepen mensen gezondheidsmetingen uitgevoerd tussen 2020 en 2023. Er zijn keel- en neusswabs afgenomen bij patiënten die met longontsteking bij de huisarts kwamen. Bij geitenhouders en hun werknemers en bij andere omwonenden (controlepersonen) zonder klachten zijn eveneens keel- en neusswabs afgenomen, alsook een bloedmonster. De keel- en neusswabs van deze drie populaties werden met dezelfde methoden onderzocht. Er werd een multiplex-PCR op 33 ziekteverwekkers, die veelvuldig luchtwegklachten bij mensen kunnen veroorzaken en aanvullend twee aparte PCR-testen uitgevoerd voor SARS-CoV-2 (het virus dat COVID-19 veroorzaakt) en *Coxiella burnetii* (de bacterie die Q-koorts veroorzaakt). Daarnaast werd het bacteriële microbioom van de keel- en neusswabs van alle drie de groepen in kaart gebracht. De bloedmonsters van de geitenhouders en controlepersonen werden ook onderzocht op antilichamen tegen allerlei schimmels.

Geitenbedrijvenstudie

In de geitenbedrijvenstudie werden aan deelnemende geitenbedrijven monsternamebezoeken gebracht, verdeeld over het type stallen en verdeeld over verschillende momenten in de bedrijfsvoering. Daarbij werden uiteenlopende typen monsters genomen: monsters van de geiten zelf (onder andere neus- en keelswabs), van stromest uit de pot, van mest-/composthoop, voer, strooisel (bedding), stof, drink-, afval- en slootwater, tankmelk en zowel actieve als passieve 24-uursmonsters van de stallucht. Bij de actieve luchtmonsternames werd ook de concentratie van stofdeeltjes continu gemeten. Daarnaast werd vastgelegd welke activiteiten er op welke tijdstippen plaatsvonden. Bij monstername-bezoeken tijdens het omzetten van een mesthoop buiten de stal werden luchtmonsters genomen, boven- en benedenwinds van de mesthoop.

Met behulp van een brede aanpak van genetisch sequensen werden de monsters (meer precies: het genetische materiaal geïsoleerd uit de monsters) onderzocht op de aanwezigheid van (groepen) bacteriën, virussen en schimmels. De uitkomsten hiervan werden onder andere geanalyseerd op micro-organismen, die uit de literatuurstudie naar voren waren gekomen. De resultaten voor de stalluchtmonsters werden vergeleken met die voor verschillende andere typen monsters, om zo aanwijzingen te krijgen welk deel van de microbiële populatie in de stallucht toe te schrijven is aan welke bron in de stal. Daarnaast zijn de uitkomsten vergeleken tussen bedrijven om mogelijke associaties met bedrijfsfactoren te onderzoeken.

Luchtmetingen in de leefomgeving

Luchtmetingen in de leefomgeving van omwonenden van geitenhouderijen zijn uitgevoerd om te onderzoeken: 1) of micro-organismen in de lucht aangetoond kunnen worden die mogelijk in verband staan met de verhoogde incidentie van longontsteking bij omwonenden; en: 2) of de aanwezigheid van deze micro-organismen gerelateerd is aan afstand tot geitenhouderij. Op negen locaties, verspreid over Noord-Brabant en Limburg, zijn luchtmetingen uitgevoerd. Dit gebeurde zowel in de nabijheid van geitenhouderijen als verder weg. Het genetische materiaal uit de luchtfilters werd onderzocht met op het bacteriële microbioom gerichte technieken.

Resultaten

Gezondheidsstudies

Er zijn in totaal 108 patiënten, 100 geitenhouders (inclusief hun werknemers) en 956 controlepersonen geïncludeerd. De verhouding tussen de patiënten, geitenhouders en controlepersonen voor geslacht, waren onderling goed vergelijkbaar. Ook de verhouding in woonafstand tot een geitenhouderij was vergelijkbaar tussen de patiënten en controlepersonen. Wat betreft de gemiddelde leeftijd waren de patiënten en controlepersonen vergelijkbaar, maar de geitenhouders waren duidelijk jonger. Voor roken zijn er verschillen tussen de groepen, zoals een hoger percentage huidige rokers onder de patiënten en geitenhouders. Onder de patiënten zien we meer signalen van onderliggend respiratoir lijden (astma, COPD en/of emfyseem en gebruik van longmedicatie) dan in de andere groepen, wat naar verwachting was, aangezien dit risicofactoren voor longontsteking zijn. De PCR (multiplex en aanvullend) was uitgevoerd op de keel- en neusswabs van 108 patiënten, 200 controlepersonen en 91 geitenhouders. Bij 53 procent van de patiënten werd minimaal één van de geteste virussen aangetoond.

Voor de controlepersonen en geitenhouders was dit percentage lager, respectievelijk 19 procent en 28 procent. Bij 89 procent van de patiënten, 64 procent van de controlepersonen en 85 procent van de geitenhouders werd minimaal één bacterie aangetoond. Dit is vergelijkbaar met andere wetenschappelijke studies waarin de multiplex PCR-techniek gebruikt is. Acht ziekteverwekkers zijn in alle drie de groepen niet aangetoond, waaronder *Coxiella burnetii*. De PCR-resultaten van de geteste bacteriën, virussen en schimmels laten geen duidelijke verschillen zien in relatie tot de woonafstand tot een geitenhouderij. De analyses werden belemmerd doordat er veel minder patiënten met een longontsteking in de studie konden worden geïncludeerd dan oorspronkelijk beoogd, namelijk 108 patiënten van de beoogde 600 tot 800 patiënten. Dit kwam voornamelijk doordat in dezelfde periode COVID-19 heerste en er allerlei maatregelen van kracht waren in dezelfde periode, die invloed hadden op het optreden van infectieziekten, waaronder longontstekingen. Er werden verschillen in respiratoire microbiële samenstelling gevonden tussen de drie studiegroepen. Geitenhouders hadden een aanzienlijk groter aantal verschillende soorten bacteriën in hun neus. Dit verschil vertaalde zich in ook een duidelijk ander microbioom bij geitenhouders. Dit komt waarschijnlijk voor geitenhouders door hun beroepsmatige activiteiten en uitgebreide blootstelling aan diverse micro-organismen, afkomstig van geitenhouderijen. Er werden ook verschillen waargenomen in respiratoire microbiële samenstelling en diversiteit tussen de controlegroep en patiëntengroep. Dat is in lijn met de verwachting, gezien de ziektegevolgen van een pneumonie. Uit de microbioom-analyses werden hogere niveaus van *Moraxella* waargenomen bij controlepersonen die dicht bij geitenhouderijen wonen in vergelijking met degenen die verder weg wonen.

Geitenbedrijvenstudie

In totaal hebben 16 geitenbedrijven deelgenomen, waaraan in totaal 31 monsternamebezoeken zijn gebracht. Voor het identificeren van micro-organismen die longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken en die zich uit de geitenhouderij als bron zouden kunnen verspreiden via de lucht naar omwonenden, is primair gekeken naar de aanwezigheid in stalluchtmonsters van micro-organismen die uit de literatuurstudie naar voren waren gekomen. Op basis van het criterium dat deze op minstens 25 procent van de bedrijven voorkwamen in de stallucht, zijn 5 groepen/genera bacteriën (taxonomisch geslacht (genus)-niveau) en 27 bacteriën op soortniveau geprioriteerd als kandidaten, die longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken. Er zijn geen virussen geïdentificeerd die waarschijnlijk vanuit de geitenhouderij een longontsteking bij omwonenden zouden kunnen veroorzaken. Drie schimmelsoorten (alle *Aspergillus* spp.) die zijn aangetoond in de luchtmonsters op ten minste 25 procent van de bedrijven komen zo universeel voor, dat ook deze minder aannemelijk zijn.

Luchtmetingen in de leefomgeving

Van de 32 bacteriesoorten/genera op de geprioriteerde lijst uit de geitenbedrijvenstudie, zijn er 18 ook aangetoond in de luchtmonsters van de leefomgeving. Onder deze 18 bevindt zich de 'top 10' hoogst prevalente soorten/genera in de stalluchtmetingen op de geitenbedrijven.

Integratie van alle resultaten

De resultaten van de deelstudies zijn samengebracht en deze integratie brengt de uitkomsten uit de verschillende deelstudies bij elkaar in termen van 'bewijslast' voor de hoofdhypothese. Op basis van de gecombineerde resultaten-synthese is een kandidatenlijst samengesteld. Uiteindelijk staan achttien soorten bacteriën en vijf groepen bacteriën op genusniveau op deze kandidatenlijst, die voorkomen in de stallucht, in meer of mindere mate in de andere deelstudies zijn gevonden en longontsteking bij mensen kunnen geven. Deze methode van resultaten-synthese toont geen oorzakelijk verband aan, ook niet voor de hoogst geprioriteerde micro-organismen.

De alternatieve hypothese is dat blootstelling aan niet-infectieuze luchtverontreiniging (hier: stof en/of endotoxine) vanuit de geitenhouderij, ervoor kan zorgen dat omwonenden een hoger risico hebben op longontsteking. Uit de resultaten-synthese, op basis van onderzoek gedaan binnen VGO-III en eerder onderzoek, blijkt dat dit minder aannemelijk is.

Conclusies en aanbevelingen

De updates van de epidemiologische studies, waarbij een gebiedsvergelijking is uitgevoerd tussen het VGO-gebied en controlegebieden met minder veehouderij, ondersteunen voor dertien achtereenvolgende jaren een robuuste en continue associatie tussen het vaker voorkomen van longontsteking en het wonen in een veehouderij-dicht gebied. Daarnaast werd in alle onderzoeksgebieden voor alle elf onderzochte jaren een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 500 tot 2.000 meter van een geitenhouderij. De verhoogde incidentie van longontsteking bleek in veedichte regio's en rond geitenhouderijen niet maand- of seizoensgebonden te zijn maar was het hele jaar door aanwezig.

Op basis van de integratie van de resultaten van de verschillende deelstudies van VGO-III is een lijst van kandidaat-ziekteverwekkers opgesteld, die voorkomen op geitenhouderijen, zich kunnen verspreiden via de lucht naar omwonenden en bij deze mensen longontsteking kunnen veroorzaken. Niet één micro-organisme, maar meerdere kandidaat bacteriën zijn in de resultaten-synthese naar voren gekomen, die zijn gevonden op geitenbedrijven en waarvan in meer of mindere mate extra bewijslast gevonden is door bevindingen in de andere deelstudies van VGO-III. Er is geen verband gevonden tussen kandidaat-ziekteverwekkers en bedrijfsfactoren op de geitenhouderijen. Ook is er geen eenduidige koppeling tussen kandidaat-ziekteverwekker en monstertype/bron gevonden. Er zijn wel verschillen tussen bacteriën in de mate waarin ze werden gevonden in verschillende monstertypen. Zo zijn er bacteriesoorten (of bacteriegenera) die vooral te vinden zijn in het stalmilieu. Andere soorten (of genera) zijn duidelijk meer voer/water geassocieerd, en er zijn soorten (of genera) die vooral aanwezig zijn in de melk. Resultaten van een bronattributie-analyse, uitgevoerd op basis van het totale microbioom, laten zien dat bedding en stalmest de grootste relatieve bronbijdragen leveren aan het gemeten stallucht-microbioom. In de discussie is een aantal limiterende factoren aangegeven, zoals de zeer beperkte omvang van de patiëntenpopulatie door de COVID-19-pandemie en wordt besproken in hoeverre deze limiterende factoren mogelijk invloed hebben gehad op de resultaten.

Aanbevelingen

Het is belangrijk om de incidentie van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen te blijven monitoren om na te gaan of de verhoogde incidentie in de toekomst blijft bestaan. Daarom wordt aanbevolen om de epidemiologische studies, zoals beschreven in hoofdstuk 3, ook de komende jaren, in periodes van 3 à 4 jaar, te herhalen. Vanwege de vergelijkbaarheid met de resultaten van eerdere studies zouden opzet en methoden identiek moeten zijn, inclusief kernel-analyses.

Daarnaast wordt aanbevolen om te onderzoeken of op geitenbedrijven door bepaalde interventies, dat wil zeggen mogelijke aanpassingen in de bedrijfsvoering, de hoeveelheid ziekteverwekkers in de stal- en omgevingslucht omlaag gebracht kan worden met als doel het verminderen van blootstelling van de omwonenden aan ziekteverwekkers. Wat betreft aanpassingen in de bedrijfsvoering valt bijvoorbeeld te denken aan alternatieven voor omgang met stalmest en strooisel. Het effect van interventies op concentraties en emissies van ziekteverwekkers zou kunnen worden bestudeerd met luchtmetingen zoals uitgevoerd in dit onderzoek.

Kernwoorden: *geitenbedrijven, longontstekingen, omwonenden, respiratoir microbioom, multiplex PCR, micro- en metagenoom geitenbedrijven.*

Inhoud

1 Inleiding 17

1.1 Achtergrond en aanleiding 17
1.1.1 Veehouderij in Nederland 17
1.1.2 Veehouderij en gezondheid omwonenden 17
1.1.3 Onderzoek naar de gezondheidseffecten van de veehouderij voor omwonenden 17
1.1.4 Welke kennishiaten waren aanleiding voor VGO-III? 18
1.2 Vraagstellingen 18
1.3 Opzet van het onderzoek op hoofdlijnen 19
1.4 Leeswijzer 22
1.5 Literatuurlijst 22

2 Overzicht eerder onderzoek naar veehouderij en longontstekingen bij omwonenden 23

2.1 Opzet van epidemiologische studies naar longontsteking en blootstelling aan geiten- en pluimveehouderijen 23
2.2 Eerdere bevindingen uit IVG en VGO I-II 24
2.3 Eerdere bevindingen uit andere studies in binnen- en buitenland 25
2.4 Conclusies uit studies uitgevoerd voorafgaand aan VGO-III 25
2.5 Literatuurlijst 30

3 Update epidemiologische studies 31

3.1 Inleiding 31
3.2 Resultaten 31
3.2.1 Gebiedsvergelijking 31
3.2.2 Woonafstand tot een geitenhouderij 31
3.2.3 Woonafstand tot een pluimveehouderij 34
3.3 Conclusies uit de update van epidemiologische studies uitgevoerd als onderdeel van VGO-III 34
3.4 Literatuurlijst 35

4 Literatuurstudie 37

4.1 Inleiding 37
4.2 Methode 37
4.2.1 Fase 1: micro-organismen bij geiten en/of op geitenbedrijven 37
4.2.2 Fase 2: micro-organismen en luchtweginfecties bij de mens 37
4.2.3 Fase 3: Prioritering 37
4.3 Resultaten 38
4.4 Conclusie 38
4.5 Literatuurlijst 38

5 Retrospectieve patiëntenstudie 43

5.1 Inleiding 43
5.2 Methode 43
5.3 Resultaten 43
5.4 Conclusie 45
5.5 Literatuurlijst 45

6 Methoden **47**

6.1 Opzet en deelnemers gezondheidsmetingen 47
6.1.1 Patiënten: prospectief 47
6.1.1.1 Opzet onderzoek 47
6.1.1.2 Onderzoeksperiode 47
6.1.1.3 Selectie patiënten 48
6.1.1.4 Vragenlijst 48
6.1.1.5 Gezondheidsmetingen 48
6.1.2 Controlepersonen 48
6.1.2.1 Opzet onderzoek 48
6.1.2.2 Onderzoeksperiode 49
6.1.2.3 Selectie deelnemers 49
6.1.2.4 Vragenlijst 49
6.1.2.5 Gezondheidsmetingen 49
6.1.3 Geitenhouders en werknemers 49
6.1.3.1 Opzet onderzoek 49
6.1.3.2 Onderzoeksperiode 49
6.1.3.3 Selectie deelnemers 49
6.1.3.4 Vragenlijst 49
6.1.3.5 Gezondheidsmetingen 50
6.2 Laboratoriumbepalingen Gezondheidsmetingen 50
6.2.1 Multiplex PCR 50
6.2.2 Microbioom 50
6.2.3 Serologie 50
6.3 Statistische analyses Gezondheidsmetingen 50
6.4 Opzet geitenbedrijvenstudie 50
6.4.1 Opzet onderzoek 50
6.4.2 Selectie van geitenbedrijven 51
6.4.3 Enquêtes 51
6.4.4 Onderzoeksperiode 52
6.4.5 Bedrijfsmetingen 52
6.4.6 Laboratoriumbepalingen 52
6.5 Luchtmetingen leefomgeving 52
6.5.1 Opzet onderzoek 52
6.5.2 Meetlocaties 53
6.5.3 Onderzoeksperiode en monstername 53
6.5.4 Laboratoriumbepalingen 53
6.5.5 Statistische analyses 53
6.6 Persoonlijke blootstellingsmetingen geitenhouders en werknemers 54
6.7 Integratie gezondheidsstudies, geitenbedrijvenstudie en luchtmetingen in de leefomgeving 54
6.7.1 Hoofdhypothese 54
6.7.2 Resultaten-synthese I: van geitenhouderij (shortlist) naar longontsteking 55
6.7.3 Resultaten-synthese II: van longontsteking naar geitenhouderij 56
6.7.4 Alternatieve hypothese 56
6.8 Literatuurlijst 56

7 Resultaten 57

7.1 Studies Gezondheidsmetingen 57
7.1.1 Vragenlijsten 57
7.2 Laboratoriumbepalingen en analyses gezondheidsmetingen 61
7.2.1 PCR (multiplex-pathogeen en enkel-pathogeen) 61
7.2.1.1 Vergelijking studiegroepen voor aangetoonde micro-organismen 61
7.2.1.2 Relatie woonafstand tot geitenhouderij 63
7.2.2 Microbioom 64
7.2.2.1 Microbiële diversiteit 64
7.2.2.2 Samenstelling van het microbioom 65
7.2.2.3 Microbiële profielen 66
7.2.2.4 Mate van voorkomen (differentiële abundantie) 67
7.2.2.5 Integratie microbioom en multiplex PCR-resultaten 68
7.2.3 Serologie 69
7.3 Geitenbedrijvenstudie 70
7.3.1 Bedrijfsfactoren 70
7.3.2 Luchtmetingen stof en endotoxinen in de geitenbedrijven 71
7.3.2.1 Stalklimaat, ventilatie en andere meetcondities 71
7.3.2.2 Concentraties en geschatte emissies van fijnstof (PM_{10}) 72
7.3.2.3 Gehalten endotoxinen in stof en concentraties endotoxinen in stallucht 75
7.3.2.4 Fijnstof- en endotoxinenemissies op bedrijfsniveau vergeleken tussen diercategorieen 76
7.3.2.5 Resultaten luchtmetingen bij het omzetten van de mesthoop 76
7.3.3 Microbiële resultaten 79
7.3.3.1 Kenmerken van 'microbiële landschap' 80
7.3.3.2 Aanwezigheid en prioritering van ziekteverwekkers uit de literatuurstudie in luchtmonsters 81
7.3.3.3 Bronattributie voor geprioriteerde ziekteverwekkers in luchtmonsters 83
7.4 Luchtmetingen leefomgeving 85
7.5 Persoonlijke blootstellingsmetingen geitenhouders en werknemers 86
7.6 Integratie resultaten gezondheids-, luchtmetingen leefomgeving en geitenbedrijvenstudies 87
7.6.1 Inleiding 87
7.6.2 Geïntegreerde analyse hoofdhypothese 87
7.6.2.1 Resultaten-synthese I: van geitenhouderij (shortlist) naar longontsteking 87
7.6.2.2 Resultaten-synthese II: van longontsteking naar geitenhouderij 90
7.6.2.3 Interpretatie van de gevonden resultaten 90
7.6.2.4 Alternatieve hypothese 90
7.7 Literatuurlijst 94

8 Conclusies en discussie 95

8.1 Update epidemiologische studies 95
8.2 Literatuurstudie 95
8.3 Onderzoek naar de mogelijke oorzaak 95
8.3.1 Resultaten voor hoofdhypothese 96
8.3.2 Resultaten voor alternatieve hypothese 97
8.3.3 Conclusies over mogelijke oorzaak 97
8.4 Duiding van de kandidatenlijst bacteriën 98
8.4.1 Mogelijk verband met bedrijfsfactoren 99
8.4.2 Zijn er specifieke bronnen op het bedrijf aan te wijzen? 99
8.5 Discussie 99
8.6 Aanbevelingen 100
8.7 Literatuurlijst 100

9 Beantwoording vraagstellingen 101

10 Dankwoord 103

11 Verklarende woordenlijst 105

Bijlage 1 - Methoden PCR-gezondheidsmetingen 107

Bijlage 2 - Methoden microbioom-gezondheidsmetingen 109

Bijlage 3 - Resultaten PCR-gezondheidsmetingen 113

Bijlage 4 - Resultaten microbioom-analyse gezondheidsmetingen 115

Bijlage 5 - Microbiële resultaten geitenbedrijvenstudie 117

Bijlage 6 - Discussie 127

1 Inleiding

1.1 Achtergrond en aanleiding

1.1.1 Veehouderij in Nederland

Nederland is dichtbevolkt: er wonen 17,9 miljoen mensen op 41.850 km². In Nederland leeft ook een groot aantal dieren in veehouderijen. Uit cijfers van het CBS (2024) blijkt dat er eind december 2023 3,7 miljoen runderen zijn geteld, 660.000 schapen (in het lammerseizoen van 2023: 886.000), 560.000 geiten (in voorjaar: 650.000), 87 miljoen stuks pluimvee en kuikens, 12 miljoen varkens en 1 miljoen eenden en kalkoenen.[1] Er is al decennia een schaalvergroting gaande naar minder veehouderijen met steeds meer dieren per bedrijf.[2] De veehouderij is niet gelijk over het land verdeeld: in de Randstad zijn relatief weinig veehouderijen, terwijl in de Gelderse vallei, het oosten van de provincie Noord-Brabant en Noordwest Limburg juist relatief veel veehouderijen zijn gevestigd.

1.1.2 Veehouderij en gezondheid omwonenden

Waar mens en dier dicht opeen leven, is het risico op de overdracht van ziekteverwekkers (virussen, bacteriën, parasieten, schimmels) groter. Een voorbeeld hiervan is de Q-koorts-epidemie in Nederland van 2007 tot en met 2009. Hierbij zijn meer dan 4.000 Q-koorts-patiënten gemeld, vooral in het oosten van Noord-Brabant. Ongeveer 20 procent van de patiënten met acute Q-koorts hield hieraan langdurige (of chronische) klachten over.[3] Het wonen op minder dan 5 km van besmette melkgeitenbedrijven leidde tot een sterk verhoogd risico op Q-koorts. Het risico was het grootst voor omwonenden van bedrijven waar bij meerdere drachtige geiten tegelijk vroeggeboortes optraden (abortusstormen), waardoor grote hoeveelheden Q-koorts bacteriën werden verspreid. Een ander, eerder voorbeeld uit de veehouderij is de uitbraak in 2003 van de hoog pathogene vogelgriep H7N7 bij pluimvee in de Gelderse vallei, waarbij 30 miljoen kippen werden geruimd[4] en 83 mensen besmet raakten.[5]

In Nederland voert de Gezondheidsdienst voor Dieren de diergezondheidsmonitoring uit. Dit is een door de overheid en veehouderijsector opgezet vrijwillig systeem om de diergezondheid in de gaten te houden. Signalen over onder andere infectieziekten, afkomstig van diverse sectoren binnen de veehouderij, kunnen zo snel worden geïdentificeerd. De uitkomsten van de monitoring worden gedeeld met veehouders, dierenartsen en betrokken partijen, zoals de overheid, veehouderijsector, humane gezondheidszorg en omringende landen, zodat zij indien nodig actie kunnen ondernemen (www.gddiergezondheid.nl/nl/Diergezondheid/Monitoring). Relevante signalen van zoönosen (van dier op mens overdraagbare infectieziekten) vanuit de veehouderij, worden sinds 2011 gemeld in het maandelijks signaleringsoverleg Zoönosen als onderdeel van de Zoönosen-structuur. Op deze wijze kunnen signalen die van belang zijn voor de volksgezondheid snel worden geduid, nader onderzocht en zo mogelijk bestreden.[6]

Naast zoönosen zijn er andere risico's voor de gezondheid van omwonenden van veehouderijen waaronder de uitstoot van fijnstof ($PM_{2,5}$, PM_{10}), endotoxinen (componenten van de celwand van bepaalde bacteriën) en andere stoffen zoals ammoniak (NH_3). De mate van uitstoot uit veehouderijen en de uiteindelijke blootstelling van omwonenden is afhankelijk van bedrijfsgrootte, type dieren, stalsysteem, windrichting en omringende bebouwing.

1.1.3 Onderzoek naar de gezondheidseffecten van de veehouderij voor omwonenden

Nog tijdens de Q-koorts-epidemie (in 2007) vroegen huisartsen met een praktijk rondom natuurgebied de Peel in samenspraak met de medisch milieukundigen van de regionale GGD-en de overheid om onderzoek te entameren naar de hierboven beschreven risico's. Dat werd het IVG-project (Intensieve Veehouderij en Gezondheid) dat door de ministeries van Volksgezondheid, Welzijn en Sport (VWS) en Economische Zaken, Landbouw en Innovatie (EZ/LI) werd opgedragen aan het Nivel (Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg) en het IRAS (Institute for Risk Assessment Sciences), allebei in Utrecht.[7] Het betrof een breed onderzoek naar mogelijke gezondheidseffecten van omwonenden van alle veehouderijen in het oosten van Noord-Brabant en het noorden van de provincie Limburg. Er werden in de onderzoeksperiode (2007-2009) nauwelijks nadelige verbanden met de gezondheid gevonden voor het wonen in de nabijheid van rundvee- en varkensbedrijven. Er werden echter wel verbanden gevonden met het voorkomen van acute problemen van de luchtwegen

bij mensen, woonachtig in de nabijheid van pluimvee- en geitenhouderijen. Er bleek een verband te bestaan tussen het hebben van acute luchtwegproblemen en met name longontsteking en het aantal pluimvee- en/of geitenbedrijven in de nabijheid van de woning. Bij de omwonenden van veehouderijen werd in de medische dossiers van huisartsen minder astma en COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease) gevonden dan elders. Het bleek echter ook dat patiënten met COPD meer longaanvallen (exacerbaties) hadden dan mensen met COPD op grotere afstand van veehouderijen. Door de opzet van de studie kon geen uitspraak worden gedaan over eventuele causaliteit. Hoofdstuk 2 van dit rapport gaat meer uitgebreid en systematisch in op de uitkomsten van het IVG-project.

In een tweede project, het VGO project (Veehouderij en Gezondheid Omwonenden, tegelijkertijd VGO-I en VGO-II), werden de bevindingen van het IVG-project nader uitgewerkt.[8,9] Naast Nivel en IRAS werden het RIVM (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu, penvoerder) en de WUR (Wageningen University Research) toegevoegd aan het onderzoekconsortium. VGO bevestigde de resultaten van IVG voor de periode 2010-2013. Met verschillende onderzoeksmethoden (elektronische medische registraties, medisch onderzoek, vragenlijsten) en statistische technieken (kernel-analyses, regressieanalyses) werd onder meer de aandoening longontsteking in relatie tot het wonen in de omgeving van pluimvee- en geitenhouderijen verder onderzocht. Het risico op longontsteking bleek verhoogd in een straal van ongeveer 1.000 meter rond een pluimveebedrijf en een straal van ongeveer 2.000 meter rond een geitenhouderij (zie hoofdstuk 2 voor details). Het aantal extra gevallen van longontsteking in het onderzoeksgebied dat mogelijk kon worden toegeschreven aan wonen rond geitenbedrijven was gemiddeld over de jaren 2009-2013 ongeveer 89 patiënten per 100.000 mensen per jaar. Dit komt neer op ongeveer 5,4% van de longontstekingen in het onderzoeksgebied. Ook in dit project konden geen uitspraken worden gedaan over mogelijke causaliteit. Hoofdstuk 2 gaat nader in op de uitkomsten van VGO-I/II.

1.1.4 Welke kennishiaten waren aanleiding voor VGO-III?

Is er een specifieke verwekker? De oorzaken van het verhoogde risico op longontsteking zijn niet bekend. Omdat huisartsen veelal de diagnose stellen op het klinische beeld zonder aanvullend diagnostisch laboratoriumonderzoek, is niet bekend of er rond veehouderijen andere ziekteverwekkers in het spel zijn dan elders in Nederland. Meer in het algemeen moet in de literatuur worden nagegaan welke potentiële ziekteverwekkers hierbij een rol kunnen spelen. Ook is onbekend welke mogelijke ziekteverwekkers (virussen, bacteriën, schimmels, en parasieten) geitenhouders bij zich kunnen dragen, zonder dat zij er per se ziek van worden.

Specifiek bij pluimvee of geiten? Voor omwonenden van pluimveehouderijen is het aannemelijk dat blootstelling aan fijnstof, inclusief de daarin voorkomende endotoxinen, kan leiden tot (een verergering van) een luchtwegaandoening. Bij een verzwakte afweer kunnen bepaalde ziekteverwekkers hierdoor tot een longontsteking leiden. Of dit ook een rol speelt in het geval van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen, is niet duidelijk.

Specifieke bedrijfsfactoren. Factoren die zouden kunnen bijdragen aan een verhoogd risico op longontsteking zijn niet onderzocht in IVG en VGO I-II. Zo is het mogelijk dat de wijze van mestopslag (indien aanwezig) en het mestmanagement op geitenbedrijven een rol spelen bij het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden.

1.2 Vraagstellingen

Nader onderzoek naar de verhoogde risico's op longontsteking is nodig om mogelijk causale verbanden te leggen en om zo mogelijk tot effectieve preventieve maatregelen te komen. Het VGO-III-project beoogt de volgende vijf vraagstellingen te beantwoorden:

1. Is het risico op longontsteking rond geitenhouderijen in het VGO-gebied nog aanwezig in de jaren nadat de laatste observatie is gedaan van dit verhoogde risico (2013)? En zo ja, wat is de omvang van dit risico, mede in vergelijking met de eerdere observaties over de periode 2007-2013? Zijn er spatiele en temporele verschillen?

2. Wordt er op basis van huisartsgegevens ook een verhoogd risico op longontsteking gevonden in andere gebieden in Nederland waar geiten- en/of pluimvee-bedrijven voorkomen?

3. Wat zijn mogelijke verwekkers van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen? Welke geit- of geitenhouderij-gerelateerde ziekteverwekkers kunnen een longontsteking bij mensen veroorzaken (respiratoire zoönosen)?

4. Geeft een positieve serologie voor specifieke ziekte-verwekkers of dragerschap van specifieke ziekte-verwekkers bij geitenhouders aanwijzingen voor risico's op longontsteking voor omwonenden?

5. Welke micro-organismen circuleren er op geitenhouderijen die bij de mens longontsteking kunnen veroorzaken? En zijn deze micro-organismen in de lucht meetbaar? Met andere woorden, is te verwachten dat deze ziekteverwekkers een verhoogd risico op longontsteking tot op 2.000 meter afstand van een geitenhouderij kunnen verklaren? Welke bedrijfskenmerken of specifieke werkzaamheden (bijvoorbeeld gerelateerd aan mestbewerking) hangen samen met de aanwezigheid of de uitstoot van dergelijke ziekteverwekkers?

1.3 Opzet van het onderzoek op hoofdlijnen

Voor de beantwoording van de vijf vraagstellingen uit paragraaf 1.2 werden op verzoek van de ministeries van VWS en EZ/LI (nu LVVN) vijf samenhangende onderzoeksprojecten voorgesteld (zie Figuur 1.1, waarbij de metingen in de buitenlucht deel uitmaken van de bedrijvenstudies). De focus van het onderzoek naar de vraagstellingen 3-5 ligt daarbij alleen op de relatie tussen het verhoogde risico op longontsteking met geitenhouderijen. Bij de onderzoeken die gebruikmaken van gegevens uit de huisartsenpraktijk (vraagstellingen 1 en 2) komt ook de mogelijke associatie met pluimveebedrijven aan bod. Hieronder staat op hoofdlijnen de opzet van de vijf VGO-III-deelstudies beschreven.

Figuur 1.1 Schematisch overzicht van het onderzoek naar de oorzaak van longontstekingen: de vraagstellingen 3-5 van het VGO-III-project. Vraagstelling 3: onderzoek bij patiënten met longontsteking en bij controlepersonen (dat wil zeggen omwonenden zonder longontsteking); vraagstelling 4: onderzoek bij geitenhouders; vraagstelling 5: onderzoek naar bedrijfskenmerken en luchtmetingen op en in de omgeving van geitenbedrijven.



Vraagstelling 1. Epidemiologische analyses van huisartsengegevens zijn uitgevoerd, gericht op het vaststellen van het risico op respiratoire infecties, in het bijzonder longontstekingen, voor omwonenden van geiten- en pluimveehouderijen over de periode 2014-2016 en 2017-2019 (de zogenaamde signaalverificatie). Het project omvat onderzoek naar respiratoire infecties op basis van huisartsengegevens van ongeveer 100.000 inwoners van het VGO-gebied (delen van Noord-Brabant en Limburg). In eerste instantie zijn patiëntgegevens van huisartsen uit het VGO-gebied vergeleken met dezelfde patiëntgegevens van huisartsen in regio's elders in Nederland met (veel) minder veehouderijen. Deze gebiedsvergelijking geeft een eerste indicatie van het verschil in prevalentie van longontsteking tussen deze gebieden. Vervolgens zijn alleen in het VGO-gebied gegevens over ziekte en medicijngebruik voor iedere huisartsenpatiënt gekoppeld aan de meest actuele gegevens over de ligging van pluimvee- en geitenhouderijen. De exacte afstand tussen de woning en ieder bedrijf is op basis van coördinaten berekend met behulp van een Geografisch Informatie Systeem (GIS). In de studie over de periode 2017-19 is aanvullend gekeken of sprake is van seizoeneffecten en andere temporele patronen in het risico op longontsteking (zie hoofdstuk 3).

Vraagstelling 2. De analyses van vraagstelling 1 zijn uitgebreid met huisartsengegevens uit andere provincies in Nederland, namelijk regio's in Utrecht, Gelderland, en Overijssel (UGO). Hoewel er geen directe redenen zijn om aan te nemen dat de bevindingen in het VGO-gebied niet te vertalen zijn naar andere delen van Nederland, zijn er wel regionale verschillen waardoor associaties zouden kunnen afwijken. Het VGO-gebied onderscheidt zich van andere landelijke gebieden in Nederland door relatief hoge achtergrondconcentraties fijnstof. Daarnaast was er in andere regio's geen uitbraak van Q-koorts met dezelfde omvang als in het VGO-gebied. Ook voor mogelijke andere ziekteverwekkers kunnen er tussen regio's verschillen bestaan in aanwezigheid op bedrijven of mate van verspreiding naar de omgeving. Daarom zijn analyses van huisartsengegevens ook uitgevoerd in andere regio's in Nederland. Daarbij is gekeken naar vee-dichte regio's in het UGO-onderzoeksgebied. De aanpak is verder hetzelfde als bij vraagstelling 1 beschreven en betreft analyses over de jaren 2014-2017 (zie hoofdstuk 3).

Vraagstelling 3. Mogelijke oorzaken van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen zijn onderzocht met behulp van een literatuuronderzoek en een tweetal onderzoeken naar mogelijke ziekteverwekkers bij patiënten met longontsteking.

- *Literatuuronderzoek.* Literatuuronderzoek naar micro-organismen die voorkomen bij geiten en/of op geitenbedrijven, en die zijn beschreven als mogelijke oorzaak van longontsteking bij de mens (zie hoofdstuk 4).
- *Onderzoek bij patiënten met longontsteking.* Retrospectief en prospectief onderzoek naar ziekteverwekkers bij patiënten met longontsteking.
  - *Retrospectief onderzoek naar oorzakelijke micro-organismen bij longontsteking.* Bij patiënten die wegens een longontsteking in het ziekenhuis zijn opgenomen, is in meer dan 85 procent van de gevallen niet bekend welk specifiek micro-organisme de oorzaak was. Toch kunnen de informatiesystemen van de Medisch Microbiologische laboratoria (MML's) in het VGO-gebied relevante informatie bevatten over de patiënten waarvoor wel microbiologisch onderzoek is uitgevoerd. In overleg met een MML in het VGO-gebied (laboratorium van het Jeroen Bosch ziekenhuis) en een MML buiten het VGO-gebied (laboratorium van Gelre ziekenhuizen), is nagegaan of relevante gegevens beschikbaar zijn die op basis van adres gekoppeld kunnen worden aan veehouderijgegevens (zie hoofdstuk 5).
  - *Prospectief onderzoek naar oorzakelijke micro-organismen bij longontsteking.* Ook in de huisartspraktijk wordt vrijwel nooit microbiologisch onderzoek uitgevoerd naar de verwekker van longontsteking. Volgens de vigerende professionele (NHG-) standaard van de huisartsen kan de diagnose immers op klinische gronden worden gesteld, waarna, indien van toepassing, behandeling met antibiotica wordt gestart.[10] De enige mogelijkheid om meer inzicht te krijgen in de verwekkers van longontsteking in de huisartspraktijk is het uitvoeren van een gericht etiologisch onderzoek. Hiertoe is bij patiënten met een longontsteking, zodra ze zich presenteerden bij de huisarts, een keel- en neusswab afgenomen, die in het laboratorium zijn onderzocht op mogelijke verwekkers van longontsteking. Bovendien is het respiratoir microbioom (het geheel aan bacteriën in de luchtwegen) onderzocht. Van deze patiënten is informatie verzameld over onder andere leeftijd, geslacht en onderliggende medische aandoeningen. Er is ook een vergelijking gemaakt met een controlepopulatie van omwonenden zonder luchtwegklachten (zie hoofdstuk 6 en 7, studies gezondheidsmetingen).

Vraagstelling 4. Onderzoek naar de mogelijke ziekteverwekkers bij geitenhouders (zie hoofdstuk 6 en 7, studies gezondheidsmetingen). Omdat de oorzaak van gesignaleerde longaandoeningen in de omgeving van geitenhouderijen onbekend is, is onderzoek onder de hoogst blootgestelde groep voor de hand liggend. Door het benaderen van geitenhouders is relevante aanvullende informatie over het bedrijf en mestmanagement verkregen. Onderzoek in een steekproef van geitenhouders en werknemers van geitenbedrijven richt zich op het aantonen van antilichamen tegen zoönotische agentia en micro-organismen in het bloed, waarvoor serologische testen beschikbaar zijn. Hoewel zij niet ziek zijn, is een keel- en neusswab afgenomen waarmee dezelfde onderzoeken als bij de patiënten en controlepersonen zijn uitgevoerd.

Vraagstelling 5. Onderzoek naar circulerende agentia op geitenhouderijen, naar bedrijfsfactoren en naar blootstelling op leefniveau (zie hoofdstuk 6 en 7, studies geitenbedrijven en luchtmetingen leefomgeving). Dit project bestaat uit drie onderdelen:

- *Onderzoek naar circulerende agentia.* Dit bestond uit het nemen van dier- en omgevingsmonsters op een representatieve steekproef van geitenhouderijen, en het in het laboratorium-onderzoeken van deze monsters op bacteriële samenstelling. Deze monsters zijn getest op potentiële ziekteverwekkers, zoals die uit de literatuurstudie (zie Vraagstelling 3 literatuuronderzoek) naar voren zijn gekomen. Op de bezochte geitenhouderijen zijn ook 24-uursmetingen van stofconcentraties gedaan.
- *Onderzoek naar bedrijfsfactoren.* Het productieproces op een geitenbedrijf bestaat in essentie uit de volgende stappen: vermeerderen/fokken, voeren, strooien, melken, afmesten, en mestbewerking. Binnen de sector bestaan ook bedrijven die gespecialiseerd zijn in een onderdeel van de cyclus; of opfok elders (laat) doen. De wijze van huisvesting van melkgeiten in potstallen (een gestrooide ruimte waarin geiten lopen, wordt 'de pot' genoemd) en het hieraan gekoppelde mestbewerkingsmanagement is een belangrijk verschil met andere diersectoren. Daarnaast zijn er bedrijven, die mest opslaan en composteren op het terrein en bedrijven die mest gelijk (laten) afvoeren. Via enquêtes onder geitenhouders en intakegesprekken met de geitenhouders die deelnamen aan het onderzoek naar circulerende agentia, is inzicht gekregen in de variatie in bedrijfsmanagement. Om meer inzicht te krijgen in de mogelijke risico's van uitstoot van (zoönotische) ziekteverwekkers in relatie tot de productiecyclus, zijn de monsternames op bedrijven niet alleen gedaan op momenten van reguliere bedrijfsvoering, maar ook op momenten van de volgende specifieke processen: aflammeren, uitmesten en omzetten van een mesthoop. Ook werden, zowel bij monsternames tijdens reguliere bedrijfsvoering als bij die tijdens specifieke processen, de patronen van over 24 uur continu gemeten stofconcentraties vergeleken met een logboek van welke activiteiten er op welke tijdstippen plaatsvonden.
- *Blootstelling in de leefomgeving.* Dit onderzoek bestond uit het nemen en analyseren van buitenluchtmonsters in tuinen van omwonenden. Dit vormt de schakel tussen de metingen op bedrijfsniveau en wat daadwerkelijk bij omwonenden wordt gevonden aan agentia (zie vraagstelling 3).

1.4 Leeswijzer

De lezer die snel inzicht wil hebben in de resultaten van VGO-III kan zich beperken tot de publiekssamenvatting voorin dit verslag. In hoofdstuk 1 wordt naast een inleiding en achtergrond, een overzicht gegeven van de vraagstellingen. In hoofdstuk 2 staat een overzicht van eerdere epidemiologische studies binnen IVG, VGO-I en II en in hoofdstuk 3 een samenvatting van de recente epidemiologische studies, die zijn uitgevoerd in VGO-III. In hoofdstuk 4 staat een samenvatting van de resultaten van de literatuurstudie, die ten grondslag ligt aan de andere deelstudies (zoals beschreven). Vervolgens beschrijft hoofdstuk 5 wat al bekend was over de ziekteverwekkers van longontstekingen bij omwonenden rond geitenbedrijven in een retrospectieve studie. Het grootste deel van deze rapportage wordt besteed aan de uitwerking van de opzet en methoden van onderzoek naar de mogelijke oorzaken van longontstekingen rond geitenhouderijen en de aanpak van de data-integratie (hoofdstuk 6). Hoofdstuk 7 beschrijft de resultaten van de gezondheids- en geitenbedrijvenstudie, waarbij data-integratie van de deelstudies wordt uitgelegd. Wie deze deelstudies samenvattend wil lezen, kan zich beperken tot paragraaf 6.7 methoden van data-integratie en paragraaf 7.8 resultaten van data-integratie. In de discussie in hoofdstuk 8 vindt de duiding van de synthese plaats, waarin de bevindingen worden samengevat, gecombineerd en in samenhang geïnterpreteerd. Er wordt afgesloten met een aanbeveling aan de opdrachtgevers. Hoofdstuk 9 beschrijft een beknopte beantwoording van de vraagstellingen uit hoofdstuk 1.

1.5 Literatuurlijst

1. Centraal Bureau voor de Statistiek. Landbouw; gewassen, dieren en grondgebruik- naar omvangsklasse en regio. Den Haag: 2024.
2. Centraal Bureau voor de statistiek. Statline Landbouw; gewassen, dieren, grondgebruik en arbeid op nationaal niveau. Den Haag: 2024.
3. Van der Hoek W, Morroy G, Renders NHM, et al. Epidemic Q fever in humans in the Netherlands. Adv Exp Med Biol. 2012;984:329-364.
4. Stegeman A, Bouma A, Elbers AR, et al. Avian influenza A virus (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003: course of the epidemic and effectiveness of control measures. J Infect Dis. 2004;190(12):2088-95.
5. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. Lancet. 2004;363(9409):587-93.
6. Van der Giessen J, Vlaanderen F, Kortbeek T, et al. Signalling and responding to zoonotic threats using a One Health approach: a decade of the Zoonoses Structure in the Netherlands, 2011 to 2021. Euro Surveill. 2022;27(31):pii=2200039.
7. Heederik DJJ, IJzermans CJ (red.). Mogelijke effecten van intensieve-veehouderij- op de gezondheid van omwonenden: onderzoek naar potentiële blootstelling en gezondheidsproblemen. Utrecht: IRAS & Nivel: 2011.
8. Maassen K, Smit LAM, Wouters I, et al. Veehouderij en gezondheid omwonenden. Bilthoven: RIVM 2016.
9. Hagenaars T, Hoeksma P, De Roda Husman AM, et al. Veehouderij en gezondheid omwonenden (aanvullende studies). Bilthoven: RIVM 2017.
10. NHG-standaard Acuut Hoesten, versie 3.0. Utrecht: Nederlands Huisartsen Genootschap 2024.

2 Overzicht eerder onderzoek naar veehouderij en longontstekingen bij omwonenden

Aan VGO-III gingen de onderzoeksprojecten IVG (eindrapport in 2011) en VGO I-II (eindrapport in 2016 en 2017) vooraf. Daarin zijn verbanden onderzocht tussen gezondheid en wonen in de buurt van een veehouderij.[1-3] De aanleiding en opzet van deze projecten staan beschreven in hoofdstuk 1. Een belangrijke bevinding van de IVG- en VGO I-II-onderzoeksprojecten is een verhoogd risico op longontsteking bij omwonenden van geiten- en pluimveehouderijen. Dit hoofdstuk geeft een overzicht van de resultaten uit deze eerdere epidemiologische studies, waarop deze conclusie is gebaseerd.

2.1 Opzet van epidemiologische studies naar longontsteking en blootstelling aan geiten- en pluimveehouderijen

In IVG en VGO I-II zijn dwarsdoorsnedestudies uitgevoerd, waarin gegevens zijn geanalyseerd uit elektronische patiëntendossiers (EPDs) van huisartsenpraktijken in het VGO-gebied en in referentiegebieden. Longontsteking werd steeds gedefinieerd als door de huisarts vastgestelde 'community-acquired' longontsteking, gebaseerd op de 'International Classification of Primary Care' (ICPC) code R81 voor longontsteking.[4] Aanvullende studies werden uitgevoerd met behulp van vragenlijsten, waarmee deelnemers aan het VGO-I onderzoek zelf konden rapporteren of een arts in de afgelopen drie jaar één of meerdere longontstekingen had gediagnosticeerd.

Afhankelijk van het jaar van onderzoek en het type analyse ging het bij het EPD-onderzoek om 90.000 tot meer dan 100.000 bij een huisarts ingeschreven patiënten. Voor een aantal analyses werd daarnaast gebruikgemaakt van gegevens van ongeveer 75.000 patiënten van huisartsenpraktijken uit delen van Nederland met veel minder geiten- en pluimveehouderijen. Dit referentiegebied was gekozen, zodat het verder vergelijkbaar was met het onderzoeksgebied (platteland, kleine steden en dorpen met minder dan 30.000 inwoners, vergelijkbare sociaal-economische status). De patiënten uit het referentiegebied werden in deze analyses als controlegroep gebruikt. Hoewel gegevens over longontstekingen en andere symptomen en aandoeningen van de luchtwegen, leeftijd en geslacht van deze bewoners bekend waren op individueel niveau, waren er geen adresgegevens beschikbaar in het controlegebied met weinig veehouderijen. De prevalentie van longontsteking kon op deze wijze worden vergeleken tussen bewoners van gebieden met veel of juist weinig veehouderijen. Het voordeel van dergelijke gebiedsvergelijkingen is dat routinematig verzamelde gezondheidsinformatie van een grote onderzoekspopulatie vrij snel kan worden verzameld – nagenoeg iedere Nederlandse burger staat immers ingeschreven bij een huisartspraktijk. Deze resultaten zijn van belang om hypothesen te genereren over de determinanten van longontstekingen. De gebiedsvergelijkingen dienden als startpunt, omdat verschillen tussen gebieden in het voorkomen van longontsteking zowel door veehouderij als door andere factoren die tussen regio's verschillen kunnen worden veroorzaakt. Daarom zijn er verschillende andere analyses uitgevoerd met gegevens op individueel niveau over longontsteking en woonafstand tot veehouderijen. In deze andere analyses werd de mate van blootstelling bepaald door het berekenen van de afstanden tussen de woonadressen van patiënten en veehouderijen in de omgeving. Deze analyses werden alleen in het gebied met veel

veehouderijen ('IVG/VGO-onderzoeksgebied') uitgevoerd en niet in het controlegebied. Binnen het onderzoeksgebied werden mensen dus vergeleken op basis van de woonafstand tot veehouderijen. Voor de niet-veedichte gebieden waren alleen postcode-4 gegevens van patiënten beschikbaar, voor de veedichte gebieden (VGO-gebied) het volledige adres. Het niet-veedichte gebied werd geselecteerd op basis van veedichtheid in de postcodegebieden rondom de huisartsenpraktijken waar de 'controlegebied' patiënten ingeschreven waren. De prevalentie van longontsteking werd vergeleken tussen bewoners van gebieden met veel of juist weinig veehouderijen.

2.2 Eerdere bevindingen uit IVG en VGO I-II

Tabel 2.1 geeft een gedetailleerd overzicht van alle bij het VGO-consortium bekende studies die de associatie tussen longontsteking en geiten- en pluimveehouderijen hebben onderzocht tot het eind van VGOI-II. Eén studie werd in de Verenigde Staten uitgevoerd.[5] Alle andere studies komen uit Nederland. De meeste studies zijn uitgevoerd in het kader van de IVG- en VGO I-II onderzoeksprojecten. Deze worden hier eerst besproken.

Twee studies hebben gebieden met veel of juist weinig veehouderijen vergeleken, waarbij gegevens van patiënten werden verzameld over 2009 (IVG) en gedurende een langere periode van 2007-2013 (VGO-I).[6,7] Beide studies vonden een ongeveer 40 procent hogere prevalentie van longontsteking in het onderzoeksgebied met een hoge dichtheid aan veehouderijen in vergelijking met de controlegroep in het referentiegebied.

In de eerste studie (IVG), waarbij blootstelling aan veehouderijen op individueel niveau was vastgesteld, werden EPD-gegevens geanalyseerd voor het jaar 2009.[8] Deze studie vond een sterk verband tussen longontsteking (ICPC-code R81) en Q-koorts (ICPC-code A78) bij volwassenen, en een kortere afstand tussen woonadres en de dichtstbijzijnde geitenhouderij en een groter aantal geiten binnen een straal van 5.000 meter van het woonadres. Deze studie toonde ook een verband aan tussen longontsteking en de aanwezigheid van een pluimveehouderij binnen 1.000 meter van het woonadres.[8] De gegevens voor pluimvee werden opnieuw geanalyseerd en bevestigd met behulp van een spatiële kernelanalyse.[9] Een kernelmodel gaat ervan uit dat elke veehouderij binnen een gegeven reikwijdte van het woonadres onafhankelijk bijdraagt aan de kans op een gezondheidseffect. De kernelanalyse werd uitgebreid in VGO-II door een breder tijdsinterval op te nemen, namelijk EPD-gegevens van 2009 tot en met 2013, en door zowel de individuele woonafstand tot pluimvee- als tot geitenhouderijen op te nemen.[10] In deze uitgebreide studie werden verbanden opnieuw bevestigd voor de volledige vijfjarige onderzoeksperiode voor zowel pluimveehouderijen (1.000 tot 1.500 meter) als geitenhouderijen (1.500 tot 2.000 meter), met een gemiddelde populatie attributief risico (PAR) van 7,2 procent voor pluimveehouderijen en 5,4 procent voor geitenhouderijen.[10]

Omdat de eerdergenoemde studies deels overlapten met de Q-koorts-epidemie qua tijdsperiode en regio, kunnen de verbanden tussen longontsteking (een veelvoorkomende diagnose bij Q-koorts) en geitenhouderijen gedeeltelijk te wijten zijn aan *Coxiella burnetii*-infecties, vooral tijdens de jaren 2009 en 2010. In VGO-II is echter ook een kernelanalyse gedaan met onderscheid tussen geitenbedrijven, die al dan niet positief waren getest op Q-koorts.[10] Deze analyse liet zien dat de associatie tussen longontsteking en afstand tot geitenbedrijven niet uitsluitend kon worden toegeschreven aan bedrijven die eerder besmet zijn geweest met Q-koorts.

Het VGO-I-onderzoek omvatte gedetailleerde gegevens, die tijdens een medisch onderzoek en met behulp van een vragenlijst waren verzameld.[12] Daardoor konden de verbanden gecorrigeerd worden voor verschillende potentieel verstorende variabelen, zoals roken, opleidingsniveau, en het hebben van één of meerdere chronische (long)ziekten.[11] In dit onderzoek werden de eerdere verbanden in hetzelfde VGO-onderzoeksgebied onderzocht met een vragenlijst over longontsteking (uitgevraagd in 2014 of 2015 over de voorafgaande drie jaar).[11]

Hoewel de Q-koorts-epidemie voorbij was, was wonen binnen 500 meter van een geitenhouderij geassocieerd met een verhoogd risico op longontsteking. Het risico op longontsteking nam af met een grotere afstand tussen het woonadres en de geitenhouderijen, waarbij de verbanden tot 2.000 meter statistisch significant bleven. Over het algemeen leverde correctie voor de potentieel verstorende variabelen geen noemenswaardige verandering op in de gevonden verbanden.[11] Daarnaast liet een andere vragenlijststudie zien dat het waargenomen verband tussen longontsteking en wonen in de nabijheid van een geitenhouderij niet werd beïnvloed door de individuele denkwijze van omwonenden over bepaalde aspecten van veehouderij.[13] Ook de mogelijke misclassificatie van longontsteking werd in dezelfde studie onderzocht, door zelfgerapporteerde longontsteking te vergelijken met longontsteking op basis van het EPD.[13] Zelfgerapporteerde longontsteking was geassocieerd met het wonen binnen 1.000 meter van een geitenhouderij, maar de odds ratio (OR) was iets lager in vergelijking met de eerder gerapporteerde OR op basis van de klinische

diagnose van de huisarts.[11] De misclassificatie van zelfgerapporteerde longontsteking was niet gerelateerd aan de denkwijze van deelnemers over veehouderij. Dit laat zien dat mensen met een negatievere mening ten opzichte van veehouderij niet vaker ten onrechte een longontsteking rapporteren. Ook na het uitsluiten van mensen die hun gezondheidsklachten aan veehouderij toeschrijven (7,8% van de vragenlijstdeelnemers), bleef de associatie tussen longontsteking en geitenhouderij onveranderd.[13]
Ten slotte werd er onderzocht of het verband tussen longontsteking en wonen in nabijheid van geitenhouderij en/of pluimveehouderij werd beïnvloed door mobiliteitspatronen in de omgeving. Mobiliteitspatronen beïnvloedden de waargenomen verbanden niet. Maar de tijd die dicht bij huis in de buitenlucht werd doorgebracht, verhoogde wel het risico op longontsteking bij mensen die dicht bij geitenhouderijen woonden.[14]

2.3 Eerdere bevindingen uit andere studies in binnen- en buitenland

Epidemiologische studies met een vergelijkbare vraagstelling als de IVG- en VGO-onderzoeksprojecten zijn ook uitgevoerd in Nedersaksen, Duitsland. In deze studies zijn vragenlijsten en longfunctietesten gebruikt, maar zijn geen EPD-gegevens onderzocht. Deze studies vonden associaties tussen het wonen in de nabijheid van een groter aantal veehouderijen, ammoniakconcentraties in de lucht, en een hogere prevalentie van zelfgerapporteerde luchtwegsymptomen en een verminderde longfunctie. Mogelijke verbanden tussen veehouderij en longontsteking of andere luchtweginfecties zijn niet onderzocht.[15,16] Het verband tussen longontsteking en pluimveehouderij is wel onderzocht en bevestigd door een studie uit Pennsylvania.[5] Uit deze studie bleek dat mensen met de hoogste blootstelling aan grootschalige, intensieve pluimveehouderijen in de omgeving een 66 procent hoger risico op longontsteking hadden, vergeleken met mensen in de laagst blootgestelde groep.
Internationale epidemiologische studies die verbanden beschrijven tussen geitenhouderij en longontsteking bij niet-beroepsmatig blootgestelde mensen zijn beperkt tot Q-koortsuitbraken.[17–19] Een Nederlandse patiënt-controle studie richtte zich niet op longontsteking gediagnosticeerd door de huisarts, maar op mensen met longontsteking die de spoedeisende hulp van twee ziekenhuizen in Noord-Brabant in 2009 bezochten.[20] Bij de patiënten werden keeluitstrijken afgenomen voor de identificatie van ziekteverwekkers in het laboratorium. Analyse van de gegevens met multivariate logistische regressie liet zien dat longontsteking veroorzaakt door *C. burnetii*, geassocieerd was met de aanwezigheid van schapen en het aantal geiten binnen 1.000 meter van het huisadres. Een andere Nederlandse studie analyseerde spatio-temporele clusters van ziekenhuisopnames voor longontstekingen met onbekende ziekteverwekkers in de Dutch Hospital Data (DHD), een database met ziekenhuisopnames, voor de jaren 2012-2014.[21] Deze analyse signaleerde een aantal opvallende geografische clusters van longontstekingen in regio's met veel veehouderijen, maar ook in drukbevolkte gebieden in het westen van het land. Voor deze studie waren geen gegevens over woonafstand tot veehouderij op individueel niveau beschikbaar.

2.4 Conclusies uit studies uitgevoerd voorafgaand aan VGO-III

Op basis van de hierboven samengevatte resultaten kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- Longontsteking komt in alle onderzochte jaren tussen 2007 en 2013 meer voor in het IVG-/VGO-onderzoeksgebied, namelijk het zuidoosten van Nederland, waar delen van de provincies Noord-Brabant en Limburg zijn gelegen. Dit gebied heeft een hoge dichtheid van verschillende soorten veehouderijen, vaak in de nabijheid van woonwijken.
- Er is voor alle onderzochte jaren tussen 2009 en 2013 een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 1.500 tot 2.000 meter van een geitenhouderij.
- Er is voor alle onderzochte jaren tussen 2009 en 2013 een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 1.000 meter van een pluimveehouderij.

Tabel 2.1 Onderzoek naar risico op longontsteking bij omwonenden van geiten- en pluimveehouderijen in chronologische volgorde (publicatiejaar)

Referentie	Onderzoekspopulatie	Onderzoeksopzet; Gegevens longontsteking	Blootstelling	Statistische analysemethode	Resultaten
Smit, 2012 [8]	22.406 kinderen en 70.142 volwassenen, huisartspatiënten in veehouderijgebied (IVG).	Dwarsdoorsnede onderzoek; Longontsteking in EPD-huisarts, geheel 2009.	Afstand tussen woonadres en veehouderijen.	*Generalized additive modelling*, univariate en meervoudige logistische regressie.	Longontsteking bij volwassenen was geassocieerd met een kortere afstand tussen woonadres en de dichtstbijzijnde geitenhouderij, een groter aantal geiten binnen 5 km, en de aanwezigheid van een pluimveehouderij binnen 1 km.
Huijskens, 2016 [20]	408 in ziekenhuis opgenomen patiënten en 1.096 controlepersonen in veehouderijgebied.	Patiënt-controle onderzoek; Longontsteking bij spoedeisende hulp tussen april 2008 en maart 2009.	Afstand tussen woonadres en veehouderijen.	Univariate en meervoudige logistische regressie.	Longontsteking door *Coxiella burnetii* is geassocieerd met schapenhouderij en het aantal geiten binnen 1 km. Longontsteking met onbekende verwekker is niet geassocieerd met veehouderij.
Hooiveld, 2016 [6]	119.036 huisartspatiënten in veehouderijgebied (IVG). 78.060 huisartspatiënten in controlegebied (IVG).	Dwarsdoorsnede onderzoek; Longontsteking in EPD-huisarts, geheel 2009.	Aantal en type 'megastallen' in postcodegebied. Megastallen gedefinieerd als veehouderijen met >250 melkkoeien, >2.500 vleeskalveren, >7.500 vleesvarkens, >1.200 zeugen, >120.000 leghennen, >220.000 vleeskuikens, of >1.500 geiten.	Vergelijking prevalentie tussen regio's met veel en weinig megastallen met multilevel logistische regressie.	Verhoogde prevalentie longontsteking in de hoog blootgestelde regio: OR 1,42 [1,12-1,82].
				Analyse van associatie tussen prevalentie en aantal megastallen binnen de hoog blootgestelde regio met multilevel logistische regressie.	Het aantal megastallen met geiten was positief geassocieerd met longontsteking: OR 1,41 [1,08-1,84].
Freidl, 2017 [11]	2.426 deelnemers aan VGO-I-onderzoek.	Dwarsdoorsnede onderzoek; Met vragenlijst gerapporteerde longontsteking (door een arts gediagnosticeerd), en longontsteking in EPD-huisarts, voor de jaren 2012-2014/15.	Aanwezigheid veehouderij in buffers van 500 m intervallen rondom het woonadres.	Meervoudige logistische regressie.	Verhoogde ORs naarmate de afstand tussen woonadres en geitenhouderij kleiner is: 500 m OR 4,4 [2,0-9,8]; 1 km OR 2,0 [1,3-3,1]; 1,5 km OR 1,9 [1,4-2,7]; 2 km 1,9 [1,4-2,6].
			Afstand tussen woonadres en dichtstbijzijnde geitenhouderij.	Meervoudige logistische regressie.	Kleinere afstand (Q1 versus Q4) tot geitenhouderij is positief geassocieerd met longontsteking: OR 1,8 [1,2-2,7].
			Aantal dieren binnen 1 km van woonadres.	Meervoudige logistische regressie.	Meer dan 50 geiten binnen 1 km van woonadres: OR 1,7 [1,1-2,6].
Smit, 2017 [9]	92.548 huisartspatiënten in veehouderijgebied (IVG).	Dwarsdoorsnede onderzoek; Longontsteking in EPD-huisarts, heel 2009.	Afstand tussen woonadres en pluimveehouderijen.	Spatiële kernelanalyse (heranalyse van Smit, 2012 [8]).	Het risico op longontsteking gaat 11% omhoog voor elke pluimveehouderij binnen 1,15 km van het woonadres.
Van Dijk, 2017 [7]	156.690 huisartspatiënten in veehouderijgebied (VGO-I) en 101.015 huisartspatiënten in controlegebied (VGO-I).	Dwarsdoorsnede onderzoek; Longontsteking en lagere luchtweginfecties in EPD-huisarts, voor de jaren 2007-2013.	Onderzoeksgebied met hoge veedichtheid versus controlegebied met lage veedichtheid.	Multilevel logistische regressie.	Verhoogde prevalentie lagere luchtweginfecties (inclusief longontsteking): OR 1,37 [99%BI: 1,06-1,75] en alleen longontsteking: OR 1,37 [99%BI: 1,03-1,83] in onderzoeksgebied voor alle jaren samen.
Benincà, 2017 [21]	115.036 in ziekenhuis opgenomen patiënten in heel Nederland.	Spatio-temporele analyse; Longontsteking met onbekende ziekteverwekker in ziekenhuisopname database, voor de jaren 2012-2014.	Gebieden met veel of weinig veehouderij.	SaTScan spatiële analyse, en wavelet cluster analyse op tijdseries.	Significante spatiële clusters, onder meer in gebieden met veel veehouderij.

Referentie	Onderzoekspopulatie	Onderzoeksopzet; Gegevens longontsteking	Blootstelling	Statistische analysemethode	Resultaten
Poulsen, 2018 [5]	11.910 patiënten en 59.550 controles, veehouderijgebied in Pennsylvania, Verenigde Staten.	Nested case-control onderzoek; Longontsteking in EPD, voor de jaren 2004-2015.	'*Poultry operation activity metric*': variabele includeert omvang en nabijheid van pluimveestallen.	Mixed effects logistische regressie.	Verhoogd risico op longontsteking in het hoogste versus laagste kwartiel van de pluimvee blootstellingsmaat: OR 1,66 [1,27-2,18]
Kalkowska, 2018 [10]	140.059 huisartspatiënten in veehouderijgebied (VGO-II).	Dwarsdoorsnede onderzoek; Longontsteking in EPD-huisarts, voor de jaren 2009-2013.	Afstand tussen woonadres en veehouderijen.	Spatiële kernelanalyse (uitbreiding van analyse Smit, 2017 [9] met breder tijdsinterval en grotere selectie van veehouderijtypes).	Associatie tussen longontsteking en afstand tot pluimveehouderij en geitenhouderij voor alle jaren. Risicoverhoging pluimvee binnen 1 km van 3,7% tot 15,9%. Risicoverhoging geiten binnen 1,5-2 km van 12,3% tot 52,1%.
Klous, 2018 [14]	941 deelnemers aan VGO-I-onderzoek in veehouderijgebied.	Dwarsdoorsnede onderzoek; Met vragenlijst gerapporteerde longontsteking (door een arts gediagnosticeerd), en longontsteking in EPD-huisarts, voor de jaren 2012-2014/15; Met GPS bepaalde mobiliteit gedurende 7 dagen per deelnemer (studieperiode 2014-2016).	Afstand tussen woonadres en veehouderijen.	Meervoudige logistische regressie.	Associatie tussen longontsteking en woonafstand tot geitenhouderij: 500m OR 6.2 [2.2-16.5]; 1 km OR 2.5 [1.4-4.3] Geen verband met pluimvee.
			Afstand tussen woonadres en veehouderijen, en met GPS bepaalde mobiliteit gedurende 7 dagen.	Meervoudige logistische regressie.	Associatie tussen longontsteking en woonafstand tot geitenhouderij + gps-mobiliteit binnen buffer van geitenhouderijen: 500m OR 6,2 [2,2-16,9]; 1 km OR 2,5 [1,3-4,7] Geen verband met pluimvee.
			Afstand tussen woonadres en veehouderijen, en tijd besteed in de buitenlucht.	Meervoudige logistische regressie.	Associatie tussen longontsteking en woonafstand tot geitenhouderij en langere tijd in de buitenlucht: 500m OR 12,7 [3,6-45,4]; 1 km OR 3,0 [1,4-6,2] Geen verband met pluimvee.
Borlée, 2019 [13]	2.457 deelnemers aan VGO-I-onderzoek in veehouderijgebied.	Dwarsdoorsnede onderzoek; Met vragenlijst gerapporteerde longontsteking (door een arts gediagnosticeerd), voor de jaren 2012-2014/15.	Afstand tussen woonadres en veehouderijen, score voor denkwijze over veehouderij.	Meervoudige logistische regressie.	Associatie tussen longontsteking en woonafstand binnen 1 km van geitenhouderij: OR 1,78 [1,07-2,95] Groep met positievere en groep met negatievere mening hebben vergelijkbare associatie tussen longontsteking en geitenhouderij op 1 km Associatie tussen longontsteking en geitenhouderij blijft gelijk na het uitsluiten van mensen die hun gezondheidsklachten aan veehouderij toeschrijven: OR 1,75 [1,02-3,01].

BI: betrouwbaarheidsinterval; EPD: Elektronisch patiëntendossier; GPS: global positioning system; OR: Odds ratio; VGO: Veehouderij en Gezondheid Omwonenden. Resultaten zijn gepresenteerd als OR [95% BI], tenzij anders aangegeven.

2.5 Literatuurlijst

1. Heederik DJJ, Opstal-van Winden AJW, Smit LAM, et al. Mogelijke effecten van intensieve-veehouderij op de gezondheid van omwonenden: onderzoek naar potentiële blootstelling en gezondheidsproblemen [Internet]. NIVEL; 2011 [cited 2024 Feb 13]. Available from: www.onehealth.nl/sites/default/files/2018-06/mogelijke-effecten-intensieve-veehouderij-op-gezondheid-omwonenden.pdf
2. Maassen K, Smit LAM, Wouters I, et al. Veehouderij en gezondheid omwonenden. Bilthoven: RIVM 2016
3. Hagenaars T, Hoeksma P, De Roda Husman AM, et al. Veehouderij en Gezondheid Omwonenden (aanvullende studies): Analyse van gezondheidseffecten, risicofactoren en uitstoot van bio-aerosolen. Bilthoven: RIVM 2017.
4. Lamberts H, Wood M. The international classification of primary care. Oxford: Oxford university press; 1987.
5. Poulsen MN, Pollak J, Sills DL, et al. High-density poultry operations and community-acquired pneumonia in Pennsylvania. Environmental Epidemiology. 2018;2:e013.
6. Hooiveld M, Smit LAM, Van der Sman-de Beer F, et al. Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. Environ Health. 2016;15:24.
7. Van Dijk CE, Zock JP, Baliatsas C, et al. Health conditions in rural areas with high livestock density: Analysis of seven consecutive years. Environ Pollut. 2017;222:374–82.
8. Smit LAM, Van der Sman-de Beer F, Opstal-van Winden AWJ, et al. Q fever and pneumonia in an area with a high livestock density: a large population-based study. PLoS One. 2012;7:e38843.
9. Smit LAM, Boender GJ, De Steenhuijsen Piters WAA, et al. Increased risk of pneumonia in residents living near poultry farms: does the upper respiratory tract microbiota play a role? Pneumonia (Nathan). 2017;9:3.
10. Kalkowska DA, Boender GJ, Smit LAM, et al. Associations between pneumonia and residential distance to livestock farms over a five-year period in a large population-based study. PLoS One. 2018;13:e0200813.
11. Freidl GS, Spruijt IT, Borlée F, et al. Livestock-associated risk factors for pneumonia in an area of intensive animal farming in the Netherlands. PLoS One. 2017;12:e0174796.
12. Borlée F, Yzermans CJ, Krop E, et al. Spirometry, questionnaire and electronic medical record-based COPD in a population survey: Comparing prevalence, level of agreement and associations with potential risk factors. PLoS One. 2017;12:e0171494.
13. Borlée F, Yzermans CJ, Oostwegel FSM, et al. Attitude toward livestock farming does not influence the earlier observed association between proximity to goat farms and self-reported pneumonia. Environ Epidemiol. 2019;3:e041.
14. Klous G, Smit LAM, Freidl GS, et al. Pneumonia risk of people living close to goat and poultry farms - Taking GPS derived mobility patterns into account. Environ Int. 2018;115:150–60.
15. Radon K, Schulze A, Ehrenstein V, et al. Environmental exposure to confined animal feeding operations and respiratory health of neighboring residents. Epidemiology. 2007;18:300–8.
16. Schulze A, Römmelt H, Ehrenstein V, et al. Effects on pulmonary health of neighboring residents of concentrated animal feeding operations: exposure assessed using optimized estimation technique. Arch Environ Occup Health. 2011;66:146–54.
17. Bjork A, Marsden-Haug N, Nett RJ, et al. First reported multistate human Q fever outbreak in the United States, 2011. Vector Borne Zoonotic Dis. 2014;14:111–7.
18. Georgiev M, Afonso A, Neubauer H, et al. Q fever in humans and farm animals in four European countries, 1982 to 2010. Euro Surveill. 2013;18:20407.
19. Bond KA, Franklin L, Sutton B, et al. Review of 20 years of human acute Q fever notifications in Victoria, 1994-2013. Aust Vet J. 2018;96:223–30.
20. Huijskens EGW, Smit LAM, Rossen JWA, et al. Evaluation of Patients with Community-Acquired Pneumonia Caused by Zoonotic Pathogens in an Area with a High Density of Animal Farms. Zoonoses Public Health. 2016;63:160–6.
21. Benincà E, Van Boven M, Hagenaars T, et al. Space-time analysis of pneumonia hospitalisations in the Netherlands. PLOS ONE. 2017;12:e0180797.

3 Update epidemiologische studies

3.1 Inleiding

Uit epidemiologische studies die voorafgaand aan het VGO-III- onderzoeksproject zijn uitgevoerd, kan worden geconcludeerd dat door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking in alle onderzochte jaren tussen 2007 en 2013 vergeleken met een controlegebied met lage veedichtheid meer voorkomt in het IVG-/VGO-onderzoeksgebied. Voor alle onderzochte jaren werd ook een verband gevonden tussen longontsteking en het wonen binnen 1.500 tot 2.000 meter van een geitenhouderij, en het wonen binnen 1.000 meter van een pluimveehouderij. Deze eerdere studies zijn samengevat in hoofdstuk 2.

Zoals beschreven in hoofdstuk 1 zijn in het VGO-III-project de epidemiologische analyses van huisartsengegevens geactualiseerd voor de jaren 2014-2016 en 2017-2019. In de periode 2014-2019 is aanvullend gekeken of sprake is van seizoenseffecten of andere temporele patronen in het risico op longontsteking. Daarnaast zijn de analyses van huisartsengegevens ook uitgevoerd in andere provincies in Nederland, namelijk regio's in Utrecht, Gelderland, en Overijssel (UGO) voor de jaren 2014-2017. Deze analyses zijn in 2018 (actualisering 2014-2016)[1], 2019 (UGO)[2] en 2021 (actualisering 2017-2019)[3] verschenen in drie rapporten, en zijn daarnaast gepubliceerd in internationale wetenschappelijke tijdschriften.[4–7] Dit hoofdstuk vat de belangrijkste resultaten samen, waarbij vooral wordt verwezen naar de Engelstalige wetenschappelijke artikelen. Tabel 3.1 geeft een overzicht van deze vier artikelen.

3.2 Resultaten

3.2.1 Gebiedsvergelijking

De actualisering over de jaren 2014-2016 liet zien dat vergeleken met het controlegebied met lage veedichtheid het voorkomen van longontsteking 45 procent tot 60 procent hoger was in gebieden met een hoge veehouderijdichtheid (VGO-gebied).[4] De actualisering over de jaren 2017-2019 liet een 31 procent tot 39 procent hogere prevalentie van longontsteking zien in het VGO-gebied, vergeleken met het controlegebied.[3] Voor de totale periode 2017-2019 werd een OR van 1,37 (1,11-1,69) gevonden, ofwel 37 procent meer longontsteking in het VGO-onderzoeksgebied.[3] In het UGO-onderzoeksgebied werden in vergelijking met het controlegebied voor de jaren 2014-2017 ongeveer 40 procent meer longontstekingen per jaar gediagnosticeerd.[6]

3.2.2 Woonafstand tot een geitenhouderij

Periode 2014-2016. Analyse op basis van de blootstelling op individueel niveau (dat wil zeggen individuele woonafstand tot geitenhouderij) liet voor deze periode statistisch significante verbanden zien tussen het wonen binnen 500 meter van een geitenhouderij en longontsteking. Deze analyses zijn binnen het VGO-gebied uitgevoerd met behulp van multilevel analyse en meta-analyse.[5]
Tabel 3.1 Epidemiologisch onderzoek in VGO-III naar risico op longontsteking bij omwonenden van geiten- en pluimveehouderijen in chronologische volgorde (publicatiejaar)

Referentie	Onderzoekspopulatie	Onderzoeksopzet; Gegevens longontsteking	Blootstelling	Statistische analysemethode	Resultaten
Post, 2019 [5]	73.510 volwassen huisartspatiënten in veehouderijgebied.	Dwarsdoorsnede onderzoek; longontsteking in EPD-huisarts voor de jaren 2014-2016.	Afstand tussen woonadres en pluimveehouderijen en geitenhouderijen.	Univariate en meervoudige logistische regressie.	Longontsteking was geassocieerd met een kortere afstand tussen woonadres en de dichtstbijzijnde geitenhouderij voor alle buffers: 500m OR 1,60 [1,25-2,03]; 1000m OR 1,36 [1,21-1,53]; 1500m OR 1,25 [1,14-1,37]; 2000m OR 1,17 [1,09-1,27]. Geen verband met pluimveehouderij.
				Multilevel logistische regressie en meta-analyses.	Longontsteking was geassocieerd met een kortere afstand tussen woonadres en de dichtstbijzijnde geitenhouderij voor de 500m buffers: multilevel 500m OR 1,33 [1,03-1,71]; meta-analyse 500m OR 1,58 [1,10-2,27]. Geen verband met pluimveehouderij.
				Spatiële kernelanalyse.	Het risico op longontsteking gaat omhoog voor elke geitenhouderij binnen 2 km van het woonadres, met 31,9% in 2014, 23,6% in 2015 en 25,4% in 2016. Voor elke pluimveehouderij binnen 1 km was er een geringe risicoverhoging van 0,6% in 2014, geen verhoogd risico in 2015 en 2016.
Baliatsas, 2020 [4]	117.459 huisartspatiënten in veehouderijgebied 85.796 huisartspatiënten in controlegebied.	Dwarsdoorsnede onderzoek; longontsteking in EPD-huisarts voor de jaren 2014-2016.	Onderzoeksgebied met hoge veedichtheid versus controlegebied met lage veedichtheid.	Multilevel logistische regressie.	Verhoogde prevalentie longontsteking in onderzoeksgebied. 2014: OR 1,45 [1,00-2,10] 2015: OR 1,58 [1,09-2,30] 2016: OR 1,60 [1,13-2,28]
Lotterman, 2023 [6]	65.251 huisartspatiënten in veehouderijgebied.	Dwarsdoorsnede onderzoek; longontsteking in EPD-huisarts voor de jaren 2014-2017 in UGO-gebied.	Afstand tussen woonadres en pluimveehouderijen en geitenhouderijen.	Multilevel logistische regressie.	Circa 40% hogere prevalentie longontsteking in UGO-onderzoeksgebied versus controlegebied met lage veedichtheid.
				Random effects meta-analyse.	Longontsteking was geassocieerd met een kortere afstand tussen woonadres en de dichtstbijzijnde geitenhouderij voor de 500m en 1000m buffers: 500m OR 1,73 [1,24-2,42] en 1000m OR 1,19 [1,00-1,14].
				Spatiële kernelanalyse.	Het risico op longontsteking gaat omhoog met 2% tot 36% voor elke geitenhouderij op een afstand van 1-2 km, voor drie van de vier jaren in de studieperiode.
Yzermans, 2023 [7]	>100.000 huisartspatiënten in veehouderijgebied, aantal varieert per jaar.	Dwarsdoorsnede onderzoek; longontsteking in EPD-huisarts voor de jaren 2014-2019.	Onderzoeksgebied met hoge veedichtheid versus controlegebied met lage veedichtheid.	Multilevel logistische regressie.	Verhoogde prevalentie longontsteking in onderzoeksgebied voor vrijwel de complete zesjarige studieperiode. Gebiedsverschillen waren statistisch significant in tien van de twaalf afzonderlijke kalendermaanden.
			Afstand tussen woonadres en geitenhouderijen.	Multilevel logistische regressie.	In het algemeen is de incidentie van longontsteking per maand hoger bij een woonafstand van 500m of minder tot een geitenhouderij. Deze verbanden waren statistisch significant in de maanden maart (IRR 1,68 [1,02–2,78]), augustus (IRR 2,67 [1,45–4,90]) en september (IRR 2,52 [1,47–4,32]).

BI: betrouwbaarheidsinterval; EPD: Elektronisch patiëntendossier IRR: incidence rate ratios; OR: Odds ratio; UGO: Utrecht, Gelderland, en Overijssel; VGO: Veehouderij en Gezondheid Omwonenden. Resultaten zijn gepresenteerd als OR [95% BI] of IRR [95% BI], tenzij anders aangegeven.

Resultaten van de spatiële kernelanalyse toonden voor elk individueel jaar een risicoverhoging aan voor iedere geitenhouderij binnen een afstand van 2.000 meter tot de woning, uiteenlopend van 23,6 procent in 2015 tot 31,9 procent in 2014.[5] Gemiddeld over de drie jaren (2014-2016) correspondeerde het verhoogde risico op longontsteking nabij geitenhouderijen met ongeveer 127 vermijdbare gevallen per 100.000 mensen per jaar; dit komt neer op ongeveer 7 procent van de longontstekingen in het onderzoeksgebied. Analyses waarin het UGO-onderzoeksgebied werd opgenomen (2014-2016), toonden aan dat het verhoogde risico op longontsteking in relatie tot woonafstand tot geitenhouderijen consistent is in verschillende regio's in Nederland.[6] Resultaten uit de meta-analyse lieten associaties zien voor afstanden van 500 meter (OR 1,73 [95%-betrouwbaarheidsinterval (95% BI) 1,24-2,42]) en 1.000 meter (OR 1,19 [95% BI 1,00-1,14]) tussen het woonadres en een geitenhouderij in het gecombineerde UGO- en VGO-onderzoeksgebied.[6] Er werd geen additioneel effect gevonden van het aantal geiten binnen die buffer.

De positieve associaties in het UGO-onderzoeksgebied waren vergelijkbaar met de associaties in het oorspronkelijke VGO-onderzoeksgebied. In de spatiële kernelanalyse in het UGO-onderzoeksgebied werd in drie van de vier afzonderlijke jaren (2014-2017) een risicoverhoging rondom geitenhouderijen gevonden. Deze risicoverhoging kwam overeen met 10 tot 50 vermijdbare gevallen per 100.000 inwoners per jaar.

Periode 2017-2019. In deze studieperiode werden de positieve associaties tussen longontsteking en het wonen binnen 500 meter van een geitenboerderij opnieuw bevestigd (meta-analyse OR 1,38 [95% BI 1,00 – 1,90]).[3] Voor deze actualisering zijn geen spatiële kernelanalyses uitgevoerd. Een analyse van gegevens over de jaren 2014-2019 liet zien dat de verhoogde incidentie van longontsteking zowel in veedichte regio's als rond geitenhouderijen niet maand- of seizoensgebonden lijkt te zijn en het hele jaar door aanwezig was.[7]

3.2.3 Woonafstand tot een pluimveehouderij

De resultaten van de VGO-III-studies over blootstelling aan pluimveehouderijen waren inconsistent in vergelijking met de eerder gevonden positieve associaties tussen longontsteking en het wonen binnen 1.000 meter afstand van een pluimveehouderij, zoals beschreven in hoofdstuk 2. Zowel multilevel-analyse als een meta-analyse toonden geen associaties tussen longontsteking en woonafstand tot pluimveehouderijen in de jaren 2014-2016 in het VGO- onderzoeksgebied.[5] In de kernelanalyse werd voor het jaar 2014 een geringe risicoverhoging van 0,6 procent gevonden voor elke pluimveehouderij binnen 1.000 meter van de woning; in 2015 en 2016 werd geen verhoogd risico aangetoond.[5] In het UGO-onderzoeksgebied werden in geen van de analyses associaties gevonden met woonafstand tot pluimveehouderijen.[6] In 2017 en 2019 werden in het VGO- onderzoeksgebied (actualisering 2017-2019) wel associaties gevonden tussen longontsteking en wonen in de nabijheid van pluimveehouderijen op basis van de logistische regressie, maar na multilevel correctie bleven die associaties niet statistisch significant.[3] Voor de actualisering 2017-2019 zijn geen spatiële kernelanalyses uitgevoerd.

3.3 Conclusies uit de update van epidemiologische studies uitgevoerd als onderdeel van VGO-III

Op basis van de hierboven samengevatte resultaten kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- De epidemiologische studies die als onderdeel van VGO-III zijn uitgevoerd, ondersteunen de eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen in gebieden met een hoge veehouderijdichtheid. Door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking komt in alle onderzochte jaren tussen 2014-2019 meer voor in het VGO-onderzoeksgebied, zoals eerder werd gevonden in de jaren 2007-2013. Dit verband wordt daarom al dertien opeenvolgende jaren gevonden. Ook in een ander onderzoeksgebied (UGO) met veel veehouderijen (waaronder geitenhouderijen) wordt een verhoogde prevalentie van longontsteking aangetoond voor alle jaren die zijn onderzocht (2014-2017).
- Er is voor alle onderzochte jaren tussen 2014 en 2019 een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen 500 meter tot 2.000 meter van een geitenhouderij. Ook in het UGO-onderzoeksgebied wordt dit verband gevonden tot een afstand van 1.000 meter van een geitenhouderij. De VGO-III studies ondersteunen de eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen in de nabijheid van een geitenhouderij. Dit consistente verband wordt al elf opeenvolgende jaren (2009-2019) gevonden.
- De verhoogde incidentie van longontsteking is zowel in veedichte regio's als rond geitenhouderijen niet maand- of seizoensgebonden en het hele jaar door aanwezig.
- De VGO-III-studies ondersteunen de eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen binnen 1.000 meter afstand van een pluimveehouderij niet: voor de onderzochte jaren tussen 2014 en 2019 in het VGO-onderzoeksgebied werd geen, of alleen een gering, verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde

longontsteking en het wonen binnen 1.000 meter van een pluimveehouderij. In het UGO-onderzoeksgebied werd voor de onderzochte jaren (2014-2017) geen verband tussen longontsteking en pluimveehouderij gevonden.
- Het verhoogde risico op longontsteking nabij geitenhouderijen correspondeerde in het VGO-onderzoeksgebied met ongeveer 89 (gemiddeld over de jaren 2009-2013) tot 127 (gemiddeld over de jaren 2014-2016) vermijdbare gevallen per 100.000 inwoners per jaar. In het UGO-onderzoeksgebied betrof dit 10 tot 50 vermijdbare gevallen per 100.000 inwoners per jaar voor drie van de vier afzonderlijke jaren 2014-2017.

3.4 Literatuurlijst

1. IJzermans CJ, Smit LAM, Heederik DJJ, Hagenaars TJ. Veehouderij en gezondheid omwonenden III: longontsteking in de nabijheid van geiten- en pluimveehouderijen in Brabant en Limburg; actualisering 2014-2016. Utrecht: Nivel 2018.
2. Smit L, Huss A, Jacobs J, et al. Veehouderij en Gezondheid Omwonenden III: longontsteking in de nabijheid van geiten- en pluimveehouderijen in Gelderland, Overijssel en Utrecht 2014-2017. Utrecht: IRAS 2019.
3. IJzermans CJ, Smit L, Dückers M, et al. Longontsteking in de nabijheid van geitenhouderijen in Noord-Brabant en Limburg: actualisering van gegevens uit huisarts-praktijken 2017 - 2019. Utrecht: Nivel 2021.
4. Baliatsas C, Dückers M, Smit L, et al. Morbidity Rates in an Area with High Livestock Density: A Registry-Based Study Including Different Groups of Patients with Respiratory Health Problems. Int J Environ Res Public Health. 2020;17:1591.
5. Post PM, Hogerwerf L, Huss A, et al. Risk of pneumonia among residents living near goat and poultry farms during 2014-2016. PLoS One. 2019;14:e0223601.
6. Lotterman A, Baliatsas C, Rooij MMT de, et al. Increased risk of pneumonia amongst residents living near goat farms in different livestock-dense regions in the Netherlands. PLOS ONE. 2023;18:e0286972.
7. Yzermans CJ, Moleman YP, Spreeuwenberg P, et al. Risk of pneumonia in the vicinity of goat farms: a comparative assessment of temporal variation based on longitudinal health data. Pneumonia (Nathan). 2023; 15:13.

4 Literatuurstudie

4.1 Inleiding

De mogelijke oorzaak van het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden van geitenbedrijven is niet bekend. De bacterie *Coxiella burnetii*, de veroorzaker van Q-koorts, speelt hier geen rol (zie hoofdstuk 1-3). Om meer inzicht te krijgen in micro-organismen die mogelijk wel een rol spelen, is binnen het VGO-III-onderzoeksproject een literatuurstudie uitgevoerd.[1] De onderzoeksvraag was: welke micro-organismen, die voorkomen bij geiten en/of op geitenbedrijven, worden in de literatuur beschreven als mogelijke oorzaak van longontsteking bij de mens? De resultaten van het literatuuronderzoek geven aanwijzingen voor de verdere studies binnen het VGO-III-onderzoeksproject.

4.2 Methode

De literatuurstudie bestond uit drie verschillende opeenvolgende fases. Hieronder volgt per fase een uitleg van de werkwijze: Alle zoekopdrachten naar literatuur zijn uitgevoerd in Embase, een database van biomedische literatuur.

4.2.1 Fase 1: micro-organismen bij geiten en/of op geitenbedrijven

De doelstelling van Fase 1 was het identificeren van alle micro-organismen die zijn aangetroffen bij geiten en/of op geitenbedrijven door middel van het screenen van de literatuur. Hiervoor werd een zoekopdracht uitgevoerd, waarin zoektermen voor geit en micro-organismen met elkaar gecombineerd zijn. Op basis van titel en abstract werden de gevonden referenties beoordeeld of één of meerdere micro-organismen genoemd werden, die zijn aangetoond bij geiten en/of op een geitenbedrijf. De namen van alle gevonden micro-organismen in Fase 1 werden in één lijst genoteerd.

4.2.2 Fase 2: micro-organismen en luchtweginfecties bij de mens

In Fase 2 werd vastgesteld of de micro-organismen gevonden in Fase 1, beschreven zijn in de literatuur als verwekker van luchtweginfecties bij de mens. Voor ieder micro-organisme uit de lijst van Fase 1 werd een zoekopdracht uitgevoerd, waarbij de naam van het micro-organisme werd gecombineerd met verschillende termen voor humane luchtweginfecties. Aan de hand van de gevonden referenties werd per micro-organisme het bewijs voor het veroorzaken van een luchtweginfectie, en daarnaast specifiek van een longontsteking, bij de mens beoordeeld door verschillende aspecten van dit bewijs te noteren. Hierbij werd gelet op het type luchtweginfectie (bijvoorbeeld bovenste of onderste luchtweginfectie), het type longontsteking (indien longontsteking werd beschreven, namelijk longontsteking door mechanische beademing, ziekenhuis-geassocieerde longontsteking en longontsteking buiten het ziekenhuis opgelopen) en bij welke personen het een infectie geeft (bijvoorbeeld bij gezonde mensen, of alleen bij mensen met een niet goed functionerend immuunsysteem). Ook werd per micro-organisme gekeken naar de sterkte van het bewijs (uitgedrukt in het type studie waarin het micro-organisme als verwekker beschreven is, zoals een single-casestudie, meerdere casestudies of grote studies/reviews) als verwekker van luchtweginfecties. Fase 2 leverde een uiteindelijke lijst op van de micro-organismen die zowel voorkomen bij geiten(bedrijven) als luchtweginfecties bij de mens kunnen veroorzaken, met voor ieder micro-organisme de bijbehorende scores op de genoemde aspecten van bewijs.

4.2.3 Fase 3: Prioritering

Het doel van Fase 3 was het prioriteren van de micro-organismen als mogelijke oorzaak van het verhoogde risico op longontsteking rondom geitenhouderijen in Nederland. Alle micro-organismen kregen een score op basis van het bewijs uit de literatuur (zoals in Fase 2 genoteerd) als mogelijke verwekker van longontsteking. Er werden scores gegeven voor:

1. het type luchtweginfectie: score 1 voor infectie van de bovenste luchtwegen, score 2 voor organiserende pneumonie en pleuritis en score 3 voor infectie van de lage luchtwegen, voor longontsteking, voor necrotiserende longontsteking en voor longemfyseem;
2. het type longontsteking: score 0-3 voor respectievelijk geen beschreven longontsteking, longontsteking bij mechanische beademing, in het ziekenhuis opgelopen longontsteking en buiten het ziekenhuis opgelopen longontsteking;

3. de status van het immuunsysteem van de patiënten: score 1 voor alleen patiënten met een niet goed functionerend immuunsysteem en score 2 voor zowel patiënten met een goed als niet goed functionerend immuunsysteem;
4. de sterkte van het bewijs in de literatuur: score 1 single-casestudies, score 2 meerdere casestudies en score 3 voor grote studies of reviews.

Daarnaast is de lijst van micro-organismen voorgelegd aan een panel van experts uit verschillende wetenschappelijke werkvelden, waaronder de humane geneeskunde, diergeneeskunde, epidemiologie en medische en veterinaire microbiologie. De experts beoordeelden op basis van hun kennis en inzichten of het micro-organisme een mogelijke oorzaak zou kunnen zijn van het verhoogde risico op longontsteking rondom geitenhouderijen. Per micro-organisme gaven de experts een score van 'zeer onwaarschijnlijk' (score 1) tot 'zeer waarschijnlijk' (score 4) en van alle expert-scores samen is per micro-organisme een gemiddelde berekend.

4.3 Resultaten

De zoekopdracht in Fase 1 leverde 4.309 referenties op. Het beoordelen van de referenties resulteerde in een lijst van 302 verschillende micro-organismen die voorkomen bij geiten: 180 bacteriën, 13 schimmels, 60 protozoa en 49 virussen (Figuur 4.1). Vanwege het grote aantal gevonden micro-organismen was besloten om de lijst kritisch door te nemen vóórdat gestart werd met de zoekopdracht van Fase 2. Micro-organismen die primair door een vector (bijvoorbeeld teek of mug) worden overgedragen, worminfecties, voedsel overdraagbare micro-organismen, micro-organismen die niet in Nederland voorkomen en micro-organismen die al onder controle zijn in Nederland zijn buiten beschouwing gelaten in Fase 2.

Fase 2 is gestart met 223 micro-organismen. De zoek-opdracht in deze fase leverde voor 79 organismen geen referenties voor humane luchtweginfecties op. Voor 48 micro-organismen leverde de Fase 2-zoekopdracht wel referenties op. Maar na beoordeling gaven deze referenties geen bewijs dat het micro-organisme een luchtweg-infectie kan veroorzaken bij de mens, waardoor de micro-organismen alsnog zijn afgevallen. De uiteindelijke lijst van micro-organismen die bij geiten voorkomen en luchtweginfecties bij de mens kunnen veroorzaken, bestond uit 96 micro-organismen: 76 bacteriën, 7 schimmels, 6 protozoa en 7 virussen (Figuur 4.1). Wanneer de scores op basis van de literatuur en die van het expertpanel werden gecombineerd, kwamen *Moraxella* spp., *Chlamydia psittaci*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* en *Klebsiella pneumoniae* als hoogst scorende bacteriën naar voren.[1] De volledige lijst, inclusief prioritering op basis van het hierboven beschreven score-systeem en de gemiddelde scores van het externe panel van experts, is te vinden in Tabel 4.1.

4.4 Conclusie

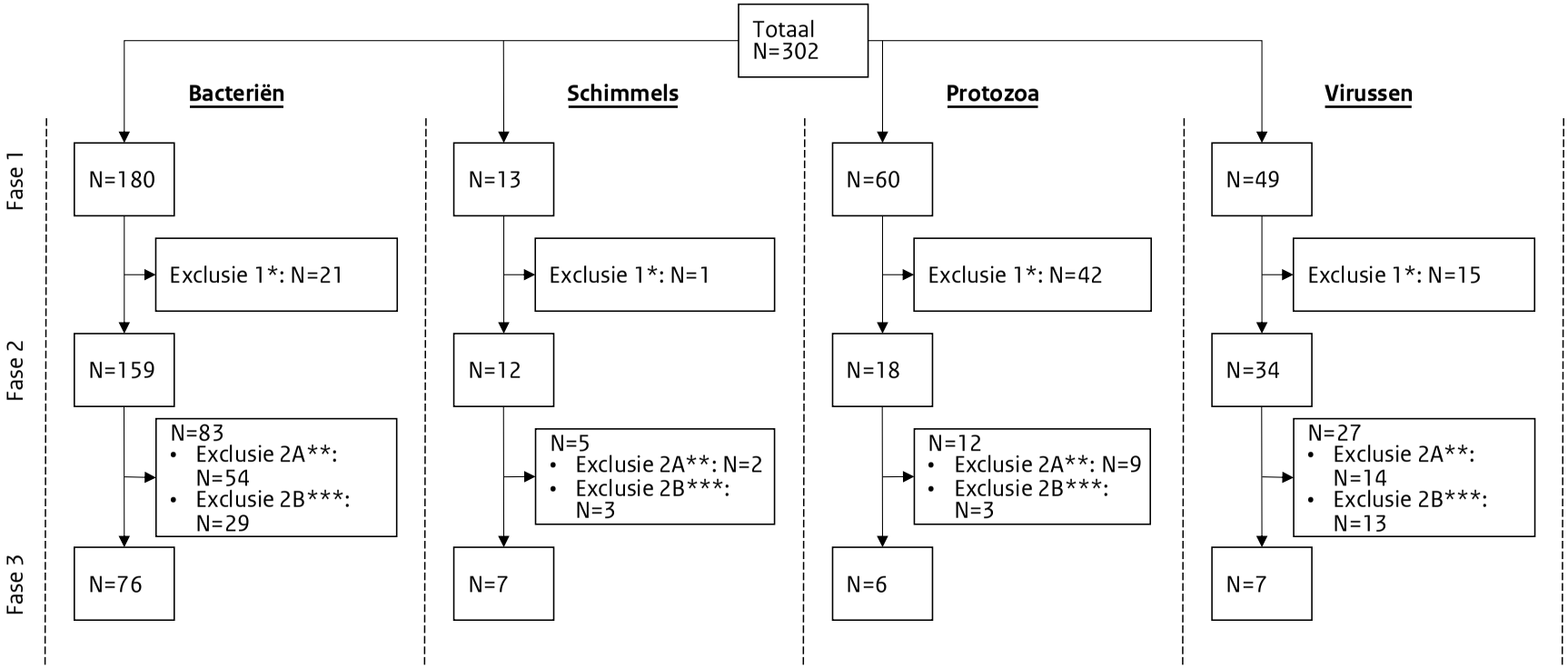
De literatuurstudie leverde een lange lijst aan micro-organismen op, die zijn gevonden bij geiten en/of op geitenbedrijven. Van deze organismen bleek een substantieel deel ook te zijn aangetoond bij mensen met luchtweginfecties. In totaal werden 96 micro-organismen geïdentificeerd, die bij geiten kunnen voorkomen, en waarvan in de literatuur wordt beschreven dat ze een verwekker zijn van luchtweginfecties bij de mens. Het overgrote deel van de micro-organismen op deze lijst betrof bacteriën. Het aandeel bacteriën op de lijst was groter dan het aandeel schimmels, protozoa en virussen samen. Ook de toegewezen scores van het score-systeem en het externe panel van experts waren hoger voor de groep bacteriën dan voor de schimmels, protozoa en virussen.

Vanwege de lengte van de lijst, kan op basis van dit literatuuronderzoek geen eenduidige conclusie getrokken worden welke micro-organismen mogelijk de oorzaak zijn van het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen. De resultaten van de literatuurstudie ondersteunen de brede onderzoeksopzet van de andere VGO-III-studies, waarbij gebruikt wordt gemaakt van brede microbiologische diagnostiek. Ook kunnen de uitkomsten van de microbiologische diagnostiek van deze andere studies worden vergeleken met de lijst van micro-organismen ondersteund vanuit dit literatuuronderzoek.

4.5 Literatuurlijst

1. Lokhorst W, Roof I, Opsteegh M, et al. Literature review on micro-organisms from domestic goats potentially causing human pneumonia. Infection Ecology & Epidemiology. 2024;14(1): 2406835.

Figuur 4.1 Overzicht van het aantal micro-organismen, gerelateerd aan geiten en humane longontsteking tijdens verschillende fasen van de literatuurstudie. * Exclusie 1: buiten beschouwing gelaten micro-organismen die primair door een vector (bijvoorbeeld teek of mug) worden overgedragen, worminfecties, voedsel overdraagbare micro-organismen, micro-organismen die niet in Nederland voorkomen en micro-organismen die al onder controle zijn in Nederland; ** Exclusie 2A: geen referenties gevonden in zoekopdracht fase 2; *** Exclusie 2B: gevonden referenties geven geen indicatie als verwekkers van luchtweginfecties.



Tabel 4.1 De volledige uiteindelijke lijst van micro-organismen die gevonden zijn bij geiten en longontsteking bij de mens kunnen veroorzaken, inclusief prioritering op basis van het score-systeem en de gemiddelde scores van het externe panel van experts (zie paragraaf 4.2.3 Fase 3: Prioritering)

Micro-organisme	Score-systeem literatuur				Score expert panel
	Type long-ontsteking (max. score 3)	Type luchtweg-infectie (max. score 3)	Status immuunsysteem (max. score 2)	Sterkte van bewijs (max. score 3)	Gemiddelde score (max. score 4)
Bacteriën					
Moraxella spp	3	3	2	3	2,75
Chlamydia psittaci	3	3	2	3	2,67
Staphylococcus aureus	3	3	2	3	2,60
Streptococcus pneumoniae	3	3	2	3	2,60
Escherichia coli	3	3	2	3	2,40
Klebsiella pneumoniae	3	3	2	3	2,20
Pseudomonas aeruginosa	3	3	2	3	2,00
Listeria monocytogenes	3	3	2	3	1,83
Prescottella equi	3	3	2	3	1,67
Mycobacterium	3	3	2	3	1,67
Clostridioides difficile	3	3	2	3	1,60
Aeromonas	3	3	2	3	1,33
Acinetobacter baumannii	3	3	2	3	1,25
Campylobacter fetus	3	3	2	2	2,00
Enterococcus faecium	3	3	2	2	2,00
Francisella tularensis	3	3	2	2	1,80
Burkholderia cepacia	3	3	2	2	1,67
Leptospira	3	3	2	2	1,60
Burkholderia pseudomallei	3	3	2	2	1,40
Proteus mirabilis	3	3	2	2	1,25
Nocardia farcinica	3	3	2	2	1,00
Nocardia	3	3	2	2	1,00
Chlamydia abortus	3	3	2	1	2,83
Bacillus cereus	3	3	2	1	2,00
Trueperella pyogenes	3	3	2	1	2,00
Corynebacterium pseudotuberculosis	3	3	2	1	1,75
Paeniclostridium sordellii	3	3	2	1	1,75
Clostridium perfringens	3	3	2	1	1,60
Yersinia enterocolitica	3	3	2	1	1,60
Actinomyces	3	3	2	1	1,50

Micro-organisme	Score-systeem literatuur				Score expert panel
	Type long-ontsteking (max. score 3)	Type luchtweg-infectie (max. score 3)	Status immuunsysteem (max. score 2)	Sterkte van bewijs (max. score 3)	Gemiddelde score (max. score 4)
Erysipelothrix rhusiopathiae	3	3	2	1	1,50
Salmonella enterica	3	3	2	1	1,50
Morganella morganii	3	3	2	1	1,33
Clostridium cadaveris	3	3	2	1	1,33
Pseudomonas putida	3	3	2	1	1,33
Streptococcus equi	3	3	2	1	1,33
Lactococcus cremoris	3	3	2	1	1,33
Acinetobacter lwoffii	3	3	2	1	1,25
Shigella sonnei	3	3	2	1	1,25
Shigella	3	3	2	1	1,25
Mesomycoplasma hyorhinis	3	3	2	1	1,00
Klebsiella oxytoca	3	3	1	3	2,00
Pasteurella multocida	3	3	1	3	2,00
Staphylococcus epidermidis	3	3	1	3	1,50
Enterococcus faecalis	3	3	1	2	2,00
Streptococcus uberis	3	3	1	2	1,67
Citrobacter freundii	3	3	1	2	1,33
Serratia marcescens	3	3	1	2	1,25
Staphylococcus intermedius	3	3	1	1	1,75
Staphylococcus cohnii	3	3	1	1	1,50
Enterococcus hirae	3	3	1	1	1,33
Micrococcus	3	3	1	1	1,00
Staphylococcus haemolyticus	3	3	0	3	1,50
Streptococcus suis	3	3	0	1	1,25
Streptococcus intermedius	2	3	2	1	1,67
Enterobacter cloacae	2	3	1	3	1,67
Acinetobacter haemolyticus	2	3	1	2	1,25
Staphylococcus lugdunensis	2	3	1	1	1,75
Staphylococcus saprophyticus	2	3	1	1	1,50
Micrococcus luteus	2	1	1	2	1,33
Fusobacterium nucleatum	1	3	2	3	1,67
Stenotrophomonas maltophilia	1	3	2	3	1,67
Proteus vulgaris	1	3	1	2	1,25
Citrobacter diversus	1	3	1	1	1,33
Cronobacter sakazakii	1	3	1	1	1,33

Micro-organisme	Score-systeem literatuur				Score expert panel
	Type long-ontsteking (max. score 3)	Type luchtweg-infectie (max. score 3)	Status immuunsysteem (max. score 2)	Sterkte van bewijs (max. score 3)	Gemiddelde score (max. score 4)
Clostridium botulinum	1	3	0	2	1,40
Providencia stuartii	1	3	0	0	1,00
Campylobacter lari	1	2	1	1	1,33
Corynebacterium ulcerans	1	1	2	3	1,67
Streptococcus agalactiae	1	1	2	3	1,67
Streptococcus dysgalactiae	1	1	2	3	1,67
Staphylococcus capitis	1	1	1	1	1,50
Helicobacter pylori	1	1	0	3	1,00
Fusobacterium necrophorum	0	3	2	2	2,00
Streptococcus pluranimalium	0	3	1	1	1,33
Mammaliicoccus lentus	0	1	2	1	1,50
Schimmels					
Cryptococcus neoformans	3	3	2	2	1,80
Aspergillus	3	3	1	3	2,00
Candida albicans	2	3	2	3	1,00
Enterocytozoon bieneusi	1	1	2	1	1,00
Cryptococcus gattii	0	3	2	2	1,50
Conidiobolus	0	3	2	1	1,00
Encephalitozoon cuniculi	0	3	1	2	1,00
Protozoa					
Pentatrichomonas hominis	1	3	1	1	1,00
Cryptosporidium parvum	1	1	2	2	1,75
Leishmania donovani	1	1	1	2	1,00
Cryptosporidium hominis	1	1	1	1	1,25
Balantioides coli	0	3	1	1	1,00
Rhinosporidium seeberi	0	1	2	3	1,00
Virussen					
Orthopneumovirus bovis	3	3	2	3	2,17
Mastadenovirus	3	3	2	3	2,00
Respirovirus pneumoniae	3	3	2	2	2,17
Picobirnavirus	3	3	2	2	2,00
Simplexvirus	3	3	1	3	1,33
Caprine astrovirus	1	1	0	2	1,67
Deltainfluenzavirus influenzae	0	3	0	0	2,00

5 Retrospectieve patiëntenstudie

5.1 Inleiding

Zoals in hoofdstuk 1 beschreven, is binnen het VGO-III-onderzoeksproject een tweetal onderzoeken uitgevoerd naar mogelijke ziekteverwekkers bij patiënten met een longontsteking: een retrospectief en een prospectief onderzoek. In Nederland wordt het overgrote deel van de patiënten met longontsteking behandeld bij de huisarts. De mogelijke ziekteverwekkers van patiënten met longontsteking die bij de huisarts komen, zijn onderzocht in het prospectieve onderzoek (zie hoofdstuk 6). In de retrospectieve patiëntenstudie zijn laboratoriumgegevens geanalyseerd van patiënten die met een longontsteking waren opgenomen in een ziekenhuis.[1] In deze studie stond de onderzoeksvraag centraal of de micro-organismen die zijn aangetoond bij patiënten met een longontsteking verschillen tussen patiënten die dichtbij geiten- of pluimveebedrijven wonen en patiënten die verder weg wonen. De retrospectieve patiëntenstudie is uitgevoerd ter voorbereiding op de prospectieve patiëntenstudie.

5.2 Methode

Voor deze analyse hebben we de laboratoriumuitslagen ontvangen van patiënten die in 2016 of 2017 met een longontsteking werden opgenomen in het Jeroen Bosch Ziekenhuis (in 's-Hertogenbosch) of Gelre Ziekenhuis (in Apeldoorn). De ontvangen laboratoriumgegevens bevatten uitslagen voor influenzavirus type A en influenzavirus type B die werden aangetoond via PCR. Ook de uitslagen van urine antigeen-testen voor *Streptococcus pneumoniae* (pneumokokken) en *Legionella pneumophila* (bacterie die legionellose/veteranenziekte veroorzaakt) werden ontvangen. Diagnostiek voor *Coxiella burnetii* werd slechts beperkt in deze ziekenhuizen aangevraagd en maakt daarom geen onderdeel uit van deze analyse. Op basis van het huisadres van de patiënten werd de afstand tot het dichtstbijzijnde geiten- en pluimveebedrijf berekend. Vervolgens werden de laboratoriumuitslagen voor verschillende micro-organismen van patiënten die op minder dan 2.000 meter afstand van een geiten- of pluimveebedrijf wonen, vergeleken met patiënten die op meer dan 2.000 meter afstand wonen.

5.3 Resultaten

In totaal werden van 2.230 ziekenhuisopnames voor longontsteking de laboratoriumuitslagen voor influenzavirus type A, influenzavirus type B, *L. pneumophila* en *S. pneumoniae* geanalyseerd. In 12,4 procent van de ziekenhuisopnames bleek de patiënt op minder dan 2.000 meter van een geitenbedrijf te wonen en 16,6 procent woonde op minder dan 2.000 meter afstand van een pluimveebedrijf (Tabel 5.1). Er werd geen verschil gevonden in het seizoen waarin de ziekenhuisopname plaatsvond tussen patiënten die dichtbij (< 2.000 meter) of verder weg (> 2.000 meter) woonden van geiten- en pluimveebedrijven. In ongeveer 25 procent van de ziekenhuisopnames voor longontsteking werd een van de vier geteste micro-organismen aangetoond. De resultaten van de statistische analyses van de laboratoriumuitslagen zijn te vinden in Tabel 5.2. Een positieve urine antigeen-test voor *S. pneumoniae* werd vaker gevonden in patiënten die op minder dan 2.000 meter van een geitenbedrijf en pluimveebedrijf (respectievelijk 15,2% en 14,4%) wonen, dan bij patiënten die op meer dan 2.000 meter afstand wonen (respectievelijk 11,3% en 11,3%). Deze verschillen waren echter niet-statistisch significant. Voor alleen de gegevens van het Jeroen Bosch ziekenhuis werd wel een statistisch significante associatie (p=0,032) gevonden tussen een positieve urine antigeen-test voor *S. pneumoniae* en de aanwezigheid van pluimvee binnen 2.000 meter van woonadres van de patiënt (gegevens niet in de tabel opgenomen).

Tabel 5.1 Karakteristieken van patiënten die in het ziekenhuis werden opgenomen met een longontsteking, weergegeven op basis van woonafstand van de patiënt tot geiten- en pluimveehouderijen (N=2230)

	Geiten ≤2 km N (%)	Geiten >2 km N (%)	P-waarde	Pluimvee ≤2 km N (%)	Pluimvee >2 km N (%)	P-waarde
N	277 (12,4)	1953 (87,6)		370 (16,6)	1860 (83,4)	
Leeftijd, mediaan	73	72	0,1740	72	72	0,9810
Geslacht, man	162 (58,5)	1121 (57,4)	0,7458	235 (65,5)	1048 (56,3)	0,0113
≥ 1 micro-organisme aangetoond	66 (23,8)	493 (25,2)	0,6569	100 (27,0)	459 (24,7)	0,3579
Seizoen ziekenhuisopname						
April-september	108 (39,0)	708 (36,3)	0,3866	135 (36,5)	681 (36,6)	1,0000
Oktober-maart	169 (61,0)	1245 (63,7)		235 (63,5)	1179 (63,4)	

Tabel 5.2 Laboratoriumuitslagen van patiënten opgenomen in het ziekenhuis met longontsteking gerelateerd aan de afstand van het woonadres van de patiënt tot geiten- en pluimveehouderijen

		Geiten ≤2 km N (%)	Geiten >2 km N (%)	P-waarde	Pluimvee ≤2 km N (%)	Pluimvee >2 km N (%)	P-waarde
Influenza A PCR	Pos	17 (17,0)	152 (15,1)	0,5628	32 (18,0)	137 (14,7)	0,2574
	Neg	83 (83,0)	857 (84,9)		146 (82,0)	794 (85,3)	
Influenza B PCR	Pos	6 (5,9)	27 (2,7)	0,1125	5 (2,8)	28 (3,0)	1,0000
	Neg	95 (94,1)	981 (97,3)		173 (97,2)	903 (97,0)	
Legionella urine antigeen test [1]	Pos	7 (2,9)	29 (1,8)	0,3175	8 (2,7)	28 (1,8)	0,3561
	Neg	239 (97,1)	1562 (98,2)		288 (97,3)	1513 (98,2)	
***S. pneumoniae* antigeen test** [2]	Pos	36 (15,2)	177 (11,3)	0,1047	42 (14,4)	171 (11,3)	0,1376
	Neg	201 (84,8)	1385 (88,7)		249 (85,6)	1337 (88,7)	

[1] *Specifiek voor L. pneumophila serogroep 1*
[2] *Streptococcus pneumoniae*

5.4 Conclusie

Deze retrospectieve analyse van laboratoriumgegevens van patiënten die met een longontsteking in het ziekenhuis werden opgenomen, laat geen significante associatie zien tussen de onderzochte micro-organismen en het wonen in de buurt van een geiten- of pluimveebedrijf.

Dit onderzoek werd belemmerd door een aantal factoren, zoals kleine aantallen patiënten woonachtig in de buurt van een geitenhouderij en beperkt uitgevoerd diagnostisch laboratoriumonderzoek. Er was bij ongeveer 75 procent van de patiënten in deze studie geen micro-organisme in het laboratorium aangetoond. Slechts vier micro-organismen waren onderdeel van het routine laboratoriumonderzoek in beide ziekenhuizen en konden meegenomen worden in de statistische analyse. Het Gelre ziekenhuis gebruikt voor diagnostiek bij patiënten met luchtwegproblemen een uitgebreider panel van verschillende micro-organismen. Het aantal patiënten bij dit ziekenhuis dat binnen 2.000 meter van een geitenbedrijf woonde (3,6%), was te laag voor een afzonderlijke analyse.

De resultaten geven geen duidelijke aanknopingspunten over de mogelijke oorzaken van het verhoogde risico op longontsteking rond geitenbedrijven. De bevinding van een associatie tussen een positieve urine antigeen-test voor *S. pneumoniae* en de aanwezigheid van pluimvee past bij eerdere bevindingen in VGO wat betreft de mogelijke rol van fijnstof als mogelijke oorzaak van het verhoogde risico op longontsteking rond pluimveebedrijven.[2,3]

5.5 Literatuurlijst

1. Roof I, Van Gageldonk-Lafeber AB, Zomer TP, Vermeeren YM, Wever PC, Van der Hoek W. Identified micro-organisms in hospitalized community-acquired pneumonia patients living near goat and poultry farms. Pneumonia. 2021 ;13(1):13.
2. Smit LAM. The air we breathe: understanding the impact of the environment on pneumonia. Pneumonia. 2022; 14:2.
3. Smit LAM, Boender GJ, De Steenhuijsen Piters WAA, et al. Increased risk of pneumonia in residents living near poultry farms: does the upper respiratory tract microbiota play a role? Pneumonia. 2017; 9:3.

6 Methoden

6.1 Opzet en deelnemers gezondheidsmetingen

Binnen het VGO-III-onderzoek zijn er bij verschillende groepen mensen gezondheidsmetingen uitgevoerd om te kunnen achterhalen waarom mensen die in de buurt van geitenhouderijen wonen vaker een longontsteking krijgen (zie Figuur 1.1). Deze groepen betreffen: 1) patiënten die door de huisarts met een longontsteking worden gediagnosticeerd (paragraaf 6.1.1); 2) controlepersonen die in hetzelfde gebied wonen als de patiënten, maar die geen luchtwegklachten hebben (paragraaf 6.1.2); en: 3) mensen die op geitenhouderijen werken, te weten de geitenhouders en hun medewerkers zonder luchtwegklachten (paragraaf 6.1.3). De methoden voor het uitvoeren van de gezondheidsmetingen zijn zoveel mogelijk op dezelfde wijze georganiseerd en uitgevoerd, om zodoende resultaten te verkrijgen die onderling vergeleken kunnen worden.

Alle VGO-III-deelnemers die hebben deelgenomen aan de gezondheidsmetingen hebben een toestemmingsformulier ingevuld. De gezondheidsmetingen in de studie onder patiënten met een longontsteking vallen niet onder de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO), een niet-WMO-plichtig-verklaring is afgegeven door de Medisch-Ethische Toetsingscommissie (METC) van het Universitair Medisch Centrum Utrecht (UMCU) (METC-protocolnummer 19-625/C). Vanwege de uitgebreidere gezondheidsmetingen aan de controlepersonen en de geitenhouders en hun werknemers is dit deel van het onderzoek getoetst en goedgekeurd door de METC van het UMCU (dossiernummer 19-536/D). Om de privacy van onderzoeksdeelnemers te borgen, zijn de vragenlijstgegevens en uitslagen van analyses op lichaamsmateriaal alleen gepseudonimiseerd toegankelijk voor de onderzoekers. Veehouderij-gerelateerde variabelen rondom het woonadres van de deelnemers zijn separaat gecodeerd verkregen en zijn toegevoegd aan de gepseudonimiseerde gegevens van onderzoeksdeelnemers en alleen als zodanig beschikbaar voor analyses.

In de volgende paragrafen worden de verschillen die er zijn tussen deze populaties in de opzet van het onderzoek en de werving van de deelnemers kort toegelicht. Vanaf het moment van opslag van de afgenomen monsters zijn de methoden weer vergelijkbaar en worden de drie populaties gezamenlijk behandeld in toelichtingen op de laboratoriumanalyses die zijn uitgevoerd (paragraaf 6.2) en de statistische analyses die op de verzamelde data zijn gedaan (paragraaf 6.3).

6.1.1 Patiënten: prospectief

6.1.1.1 Opzet onderzoek

Bij verdenking op een longontsteking wordt een patiënt in de klinische praktijk gelijk door de huisarts behandeld, zonder aanvullend onderzoek welke ziekteverwekker de longontsteking heeft veroorzaakt. In dit prospectieve onderzoek werd bij deze groep van patiënten met longontsteking juist aanvullend diagnostisch onderzoek gedaan, met als doel om de mogelijke ziekteverwekkers in kaart te brengen. Het onderzoek is uitgevoerd in 22 huisartsenpraktijken, gevestigd in de provincies Noord-Brabant, Limburg, Utrecht, Gelderland en Overijssel. Deze huisartsenpraktijken zijn geselecteerd op basis van hun ligging in gebieden waar geitenhouderijen zijn. Alle geselecteerde huisartsenpraktijken zijn onderdeel van het huisartsen-netwerk van Nivel Zorgregistraties Eerste Lijn.[1]

6.1.1.2 Onderzoeksperiode

De start van de prospectieve patiëntenstudie stond gepland in maart 2020. Het overgrote deel van de deelnemende huisartsenpraktijken bevond zich in met name het oostelijk deel van Noord-Brabant. Dit gebied werd zwaar getroffen in het begin van de COVID-19-pandemie (maart-april 2020), waardoor uitvoering van het onderzoek door huisartsen op dat moment onmogelijk was. In augustus 2020 startte de uitgestelde inclusie van patiënten met verdenking op longontsteking in vier huisartsenpraktijken. In september startten de overige praktijken. De planning was om gedurende één jaar alle patiënten met een vermoedelijke longontsteking te includeren. Eind 2020 bleek dat de deelnemende huisartsen veel minder patiënten met longontsteking zagen in hun praktijk dan in voorgaande jaren. Ook in de andere praktijken van Nivel Zorgregistraties eerste lijn, buiten het VGO-gebied, was het aantal longontstekingen aanzienlijk lager dan in de jaren vóór de COVID-19-pandemie. Dit hangt samen met de maatregelen tijdens de pandemie, die grote invloed hadden op het gedrag en de gezondheid van mensen. Zo hadden de maatregelen die gericht waren op het beperken van

de transmissie van het coronavirus (SARS-CoV-2) ook effect op het vóórkomen, de verspreiding en de ernst van diverse infectieziekten zoals griep en longontstekingen. Daarnaast waren er de nodige veranderingen binnen de eerstelijnszorg, zoals de zogenaamde 'hoestspreekuren' en de komst van SARS-CoV-2-teststraten. Deze veranderingen kunnen ertoe geleid hebben dat patiënten met een longontsteking eerst afwachtten en daarna bij verergering direct naar het ziekenhuis gingen, of dat ze niet bij de eigen huisarts terechtkonden. Of er rond geitenhouderijen ook minder longontsteking voorkwam, was niet bekend. Daarom is besloten om de onderzoeksperiode te verlengen tot april 2023 om zo veel mogelijk patiënten met longontsteking te kunnen includeren. Er zijn verschillende initiatieven geweest om huisartsen te blijven motiveren voor deelname aan het onderzoek, zoals het versturen van nieuwsbrieven over het onderzoek, telefonische contactmomenten en praktijkbezoeken. Tijdens deze contactmomenten met de huisartsen is herhaaldelijk het belang van dit onderzoek benadrukt. Hoewel het belang voor de huisartsen duidelijk was, zijn er gedurende de gehele onderzoeksperiode 10 van de in totaal 22 uitgenodigde huisartsenpraktijken gestopt met deelname aan het onderzoek. De voornaamste reden hiervoor was de algemene hoge werkdruk die door huisartsen ervaren werd, waardoor deelname aan dit onderzoek niet mogelijk werd geacht.

6.1.1.3 Selectie patiënten

De deelnemende huisartsen nodigden alle patiënten uit van 18 jaar en ouder die hen tijdens de onderzoeksperiode consulteerden met een mogelijke longontsteking voor deelname aan dit onderzoek. Patiënten die instemden met deelname, ondertekenden een toestemmingsverklaring. Patiënten die op het moment van diagnose van de longontsteking al antibiotica gebruikten, werden door de huisarts uitgesloten van deelname. Op basis van de coördinaten van het huisadres van de patiënten werd de afstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij berekend door de onderzoekers van het RIVM en IRAS. De informatie over de locatie van de geitenhouderijen (in 2021) was beschikbaar vanuit het Identificatie- en Registratiesysteem (I&R), dat door de Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO) wordt onderhouden. Op basis van de exacte coördinaten van het woonadres is de afstand in een rechte lijn (hemelsbreed) tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij berekend. Hierbij zijn geitenhouderijen meegenomen, die minimaal 50 geiten hebben. Alleen de woonafstand, en niet de individuele adreslocaties, werd gekoppeld aan de uiteindelijke laboratoriumgegevens.

Om statistisch significante verschillen te kunnen ontdekken tussen patiënten met een longontsteking die binnen 2.000 meter en patiënten die verder dan 2.000 meter van een geitenhouderij wonen, is de omvang van de studiepopulatie van belang. Het aantal deelnemers dat nodig is om deze verschillen aan te tonen, kan worden geschat via een powerberekening. Voorafgaand aan de start van het VGO-III-onderzoek is een dergelijke berekening uitgevoerd, waarbij de beoogde omvang van het aantal patiënten werd geschat op 600-800 patiënten. Vanwege de moeilijkheden rondom de uitvoering van de patiëntenstudie (zoals hierboven beschreven onder het kopje 'Onderzoeksperiode'), zijn er uiteindelijk 108 patiënten geïncludeerd in het onderzoek.

6.1.1.4 Vragenlijst

Bij iedere deelnemende patiënt nam de huisarts een korte vragenlijst af. Deze vragenlijst bevatte vragen over onder andere leeftijd, geslacht, klachten, datum van eerste ziektedag/klachten, roken, contact met dieren in werk of woonsituatie, onderliggende gezondheids-problemen (waaronder aandoeningen van de longen en het immuunsysteem), medicatiegebruik, recente griepvaccinatie en buitenlandbezoek. Wanneer de huisarts als aanvullend onderzoek ook een meting van de saturatie (een maat voor de hoeveelheid zuurstof in het bloed) en de CRP-bepaling (ontstekingswaarde in het bloed) uitvoerde, werden deze gegevens ook op de vragenlijst ingevuld.

6.1.1.5 Gezondheidsmetingen

Keel- en neusswab: Bij alle deelnemende patiënten is door de huisarts met een wattenstaafje een monster afgenomen uit de neus en apart ook een monster uit de keel, ofwel keel- en neusswab. De afname van deze swabs vond plaats tijdens het huisartsconsult. De keel- en neusswabs werden in speciale transportmedia bewaard, bij de huisarts in de vriezer gelegd en vervolgens binnen één week per koerier naar het RIVM gebracht. Op het RIVM werden de swabs opgeslagen bij -80 graden Celsius tot het moment van batchgewijze analyse in het laboratorium.

6.1.2 Controlepersonen

6.1.2.1 Opzet onderzoek

Om beter te begrijpen waarom longontsteking vaker voorkomt bij omwonenden van geitenhouderijen, zijn niet alleen patiënten met een longontsteking onderzocht, maar zijn ook gezondheidsmetingen uitgevoerd bij omwonenden zonder longontsteking. Hiervoor zijn personen die aan het VGO-I-gezondheidsonderzoek in 2014 of begin 2015 hebben deelgenomen, opnieuw benaderd. Uitnodigingspakketten werden uitgestuurd aan mensen die tijdens het onderzoek in 2014/2015 hebben aangegeven opnieuw benaderd te mogen worden voor vervolgonderzoek. Deze personen waren allen woonachtig in het VGO-gebied, de regio bestaande uit het oosten van Noord-Brabant en het noorden/midden van Limburg.

6.1.2.2 Onderzoeksperiode
De deelnemers die instemden met vervolgonderzoek zijn onderzocht in de periode tussen augustus 2021 en juli 2022. Gedurende deze hele periode, met uitzondering van de kerstvakantieperiode, zijn deelnemers aan huis bezocht voor de gezondheidsmetingen.

6.1.2.3 Selectie deelnemers
Van de 2.369 personen die uitgenodigd zijn voor deelname aan deze studie, hebben 1.071 personen gereageerd door het invullen van de online vragenlijst. Van deze groep, konden 102 personen niet bereikt worden voor het maken van de afspraak voor het uitvoeren van de gezondheidsmetingen. De visite vond alleen plaats als de deelnemer tijdens een telefoongesprek voorafgaand aan het bezoek aangaf vrij te zijn van COVID-19-gerelateerde klachten en geen antibiotica te gebruiken. Anders werd de visite opnieuw ingepland. In totaal zijn dus 969 controle-personen geïncludeerd in deze gezondheidsstudie. Voor deze personen is, op vergelijkbare wijze als voor de patiënten, op basis van de coördinaten van het huisadres, de afstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij berekend (zie resultaten Tabel 7.2).

6.1.2.4 Vragenlijst
Voorafgaand aan het huisbezoek vulden de deelnemers een uitgebreide (online) vragenlijst in. De vragen zijn afkomstig uit de Nederlandstalige versie van de screeningsvragenlijst van de European Community Respiratory Health Survey-III (ECRHS-III). Daarnaast bevatte de vragenlijst ook vragen over leeftijd, geslacht, rookgewoonten, werkzaamheden/ beroep, het aantal jaren dat men in de huidige woning woont en contact met dieren in de woonsituatie.

Tijdens het huisbezoek is bij elke deelnemer een korte vragenlijst afgenomen door de onderzoeker. Hierin werd gevraagd naar de meest recente informatie ten aanzien van eventuele gezondheidsklachten, waaronder COVID-19 en medicatiegebruik.

6.1.2.5 Gezondheidsmetingen
De gezondheidsmetingen vonden plaats bij de deelnemer thuis tijdens de ingeplande visite door de onderzoeksmedewerker. De gezondheidsmetingen bestonden uit afname van een keelswab, neusswab, een bloedmonster en een longfunctietest.

Keel- en neusswab: Bij de deelnemers is door een onderzoeksmedewerker een keelswab en een neusswab afgenomen. Na afname werden de swabs in een transportmedium gedaan en in de koelbox bewaard en vervolgens aan het einde van de dag op het IRAS opgeslagen bij -80 graden Celsius, om later gebruikt te worden voor laboratoriumanalyse.

Bloedmonster: Bij de deelnemers is door een onderzoeks-medewerker een venepunctie uitgevoerd om een bloedbuisje te vullen. De bloedmonsters werden in de koelbox bewaard. Aan het einde van de dag zijn de monsters, na afgedraaid te zijn, in een koelkast bij het IRAS geplaatst. De dag erna zijn ze verder opgewerkt en is het serum bij -80 graden Celsius opgeslagen voor latere laboratoriumanalyses.

6.1.3 Geitenhouders en werknemers

6.1.3.1 Opzet onderzoek
Gezien de verhoogde incidentie van longontstekingen bij omwonenden rondom geitenhouderijen, is het van belang om ook de geitenhouders en werknemers van geitenbedrijven te onderzoeken, aangezien deze mensen het hoogst blootgesteld zijn aan alles wat er op een geitenhouderij aan micro-organismen aanwezig is. De geitenhouders in Nederland zijn in 2018 via de Nederlandse GeitenZuivel Organisatie (NGZO) benaderd voor het invullen van een vragenlijst. Een meerderheid van hen gaf daarbij aan voor vervolgonderzoek benaderd te mogen worden. Deze personen zijn direct benaderd en uitgenodigd om deel te nemen aan het gezondheidsonderzoek. Volgens het CBS waren er in Nederland 411 geitenbedrijven in 2020.[2] Om zoveel mogelijk van deze bedrijven te bereiken, is er via media-kanalen in de sector een oproep gedeeld om deel te nemen en zijn er deelnemers geweest die collega-geitenhouders hebben uitgenodigd en aangedragen voor deelname.

6.1.3.2 Onderzoeksperiode
De eerste groep deelnemers is onderzocht in december 2020, waarna er vanwege de COVID-19-pandemie tijdelijk gestopt moest worden met de inclusie. In juni 2021 is het veldwerk weer opgepakt. De laatste deelnemers zijn bezocht in februari 2022, waarna de onderzoeksperiode voor deze studiepopulatie is afgesloten.

6.1.3.3 Selectie deelnemers
De deelnemer werd na aanmelding bezocht door een onderzoeksmedewerker. De visite vond alleen plaats als de deelnemer tijdens een telefoongesprek voorafgaand aan het bezoek aangaf vrij te zijn van COVID-19-gerelateerde klachten en geen antibiotica te gebruiken. Anders werd de visite opnieuw ingepland. Alleen deelnemers die 18 jaar of ouder waren en de Nederlandse taal machtig waren konden deelnemen aan dit onderzoek. In totaal zijn er, verspreid over heel Nederland, 100 geitenhouders en werknemers geïncludeerd in de studie.

6.1.3.4 Vragenlijst
Voorafgaand aan het huisbezoek vulden de deelnemers een uitgebreide (online) vragenlijst in, vergelijkbaar met

die van de controlepersonen, aangevuld met vragen over diercontact en het aantal werkzame uren op de geitenhouderij. Tijdens het huisbezoek is bij elke deelnemer een korte vragenlijst afgenomen, vergelijkbaar met die van de controlepersonen, aangevuld met vragen over (recente) bedrijfsspecifieke gebeurtenissen zoals de aflammerperiode.

6.1.3.5 Gezondheidsmetingen

De gezondheidsmetingen bestonden uit afname van een keelswab, neusswab en een bloedmonster die op dezelfde wijze verzameld zijn als voor de controlepopulatie beschreven. Aanvullend hierop, werd van de geitenhouders en medewerkers ook een ontlastingsmonster meegenomen.

6.2 Laboratoriumbepalingen Gezondheidsmetingen

De laboratoriumbepalingen hadden als doel om mogelijke ziekteverwekkers in kaart te brengen met behulp van verschillende laboratoriumtechnieken. De keelswabs en neusswabs zijn opgewerkt door het aanwezige DNA en RNA te extraheren om zo moleculaire analyses uit te kunnen voeren (PCR (multiplex en enkele pathogenen afzonderlijk), microbioom en viroom). In serummonsters van geitenhouders en werknemers en een selectie van controlepersonen is ook gekeken naar afweerreacties op blootstelling aan micro-organismen.

6.2.1 Multiplex PCR

Allereerst werd een multiplex PCR uitgevoerd, waarmee de aanwezigheid van 33 veel voorkomende ziekteverwekkers van luchtweginfecties bij de mens aangetoond kon worden. De multiplex PCR-techniek is toegepast op de DNA en RNA-extracten van de keelswabs en de neusswabs van alle deelnemende patiënten, alle deelnemende geitenhouders en werknemers en een selectie van 200 controlepersonen. In Bijlage 1, achterin dit rapport, is een volledige beschrijving te vinden van deze techniek, inclusief een overzicht van de 33 geteste ziekteverwekkers. Additioneel zijn er specifieke PCRs uitgevoerd om *Coxiella burnetii* (Q-koorts) en SARS-CoV-2 (COVID-19) aan te tonen in de keel- en neusswabs.

6.2.2 Microbioom

Naast gerichte detectie van genetisch materiaal (DNA/RNA) van specifieke ziekteverwekkers met behulp van PCR, zijn de keelswabs en neusswabs ook onderzocht met behulp van microbioom-analyses. Hiermee wordt, door het sequencen van bacterieel DNA aanwezig in het monster, de variëteit aan bacteriën die aanwezig zijn in de keelholte en neusholte, in kaart gebracht. De microbioom-analyses zijn uitgevoerd met amplicon-gebaseerd 16s rRNA-gen sequencing, gericht op de V4 regio, zie voor verdere details Bijlage 2.

6.2.3 Serologie

Op de serumsamples van controlepersonen, en geitenhouders en werknemers zijn ELISA-testen uitgevoerd, gericht op het vaststellen van blootstelling aan en immuunrespons op schimmels. Alle sera van geitenhouders en werknemers en een selectie van 100 samples van de controlepersonen zijn geïncludeerd. Selectie van de controlepersonen werd gebaseerd op de woonafstand tot een geitenhouderij. De 50 controlepersonen die het dichtst bij een geitenhouderij wonen, werden geselecteerd. Vervolgens werden 50 op leeftijd gematchte controlepersonen, die meer dan 2.000 meter van een geitenhouderij wonen, geselecteerd.

De selectie van schimmels waarop is getest, is gebaseerd op literatuuronderzoek, in combinatie met de uitkomsten van het onderzoek naar aanwezige schimmels op geitenhouderijen, zie paragraaf 6.4.

6.3 Statistische analyses Gezondheidsmetingen

Alle data uit de Gezondheidsmetingen zijn geanalyseerd met behulp van R studio, een softwarepakket voor statistiek. De vragenlijsten zijn gebruikt om per studiepopulatie een demografische beschrijving te geven, en om in uitgebreidere analyses van de laboratoriumbepalingen meer duiding aan de resultaten te geven. De uitkomsten van de laboratoriumbepalingen zijn per studiepopulatie beschreven en tussen studiepopulaties vergeleken. Om verschillen tussen groepen te onderzoeken, is gebruikgemaakt van Fisher exact-test (multiplex PCR), ANOVA (serologie) en alpha en beta-diversiteit en PERMANOVA (microbioom-analyses). Zie de bijlages van de verschillende laboratoriumbepalingen (Bijlage 1 en 2) voor een gedetailleerde beschrijving van de statistische analyses.

6.4 Opzet geitenbedrijvenstudie

6.4.1 Opzet onderzoek

In het onderzoek op geitenbedrijven stond centraal:
1) het identificeren van agentia op geitenbedrijven, die mogelijk een rol spelen bij de verhoogde incidentie van longontsteking bij omwonenden van geitenbedrijven; en
2) het in kaart brengen van mogelijk relevante bedrijfskenmerken, gerelateerd aan bovengenoemde agentia.

De algemene opzet van deze studie bestond uit het nemen, van dier- en omgevingsmonsters op een representatieve steekproef van geitenhouderijen, en het in het laboratorium onderzoeken van deze monsters op microbiële samenstelling. Op de bezochte geitenhouderijen zijn ook 24-uursmetingen van stofconcentraties (PM_{10} en PM_{100}) gedaan en daarnaast van temperatuur, luchtvochtigheid en CO_2. De CO_2-metingen dienden om de stofconcentratiemetingen te kunnen omrekenen naar stofemissiewaarden (via vermenigvuldigen van het gemiddelde ventilatiedebiet – geschat m.b.v. de CO_2-metingen – met het verschil in fijnstofconcentratie tussen de stallucht en de achtergrond). In een internet-enquête onder geitenhouders is informatie verkregen over hoe vaak bepaalde bedrijfskenmerken voorkomen. Monsternames op bedrijven werden gedaan op momenten van reguliere bedrijfsvoering, en daarnaast op momenten dat er een specifiek proces gaande was op het bedrijf dat mogelijk van invloed kon zijn op de aanwezigheid of uitstoot van ziekteverwekkers. De specifieke processen tijdens welke monsternames werden gedaan, waren: aflammeren, uitmesten en omzetten van een mesthoop. Naast melkgeitenstallen werden ook aflammerstallen en opfokstallen bemonsterd.

6.4.2 Selectie van geitenbedrijven

Via twee opeenvolgende wervingscampagnes zijn in totaal zestien deelnemende bedrijven geworven voor deze studie. Dertien daarvan hielden melkgeiten op reguliere wijze, één fokt melkgeiten op tot een leeftijd van 11 maanden en de overige twee waren biologische melkgeitenhouderijen.

In een eerste campagne (zomer 2019 tot voorjaar 2020) is geworven onder geitenhouders, die bij het invullen van eerder vragenlijstonderzoek (in 2018 uitgezet via de NGZO) hadden aangegeven opnieuw voor onderzoek benaderd te kunnen worden. In een tweede campagne (najaar 2020 tot zomer 2021) is gericht gezocht naar bedrijven met locaties in gebieden die nog ondervertegenwoordigd waren. In deze campagne is gebruikgemaakt van adresgegevens van de Kamer van Koophandel. Deze wervingscampagnes zijn onder andere ondersteund door berichtgeving in het vakblad Geitenhouderij. Bij de selectie (en werving) van de deelnemende bedrijven is gestreefd naar representatie van een huidige doorsnede van de Nederlandse melkgeiten-houderij qua bedrijfsgrootte, houderijprincipe (regulier/biologisch) en bedrijfsmanagement.

In Tabellen 6.1 en 6.2 is te zien dat de deelnemende bedrijven in uiteenlopende gebieden lagen en uiteenlopende bedrijfsomvang hadden. Daarnaast waren er tussen de zestien bedrijven verschillen in bedrijfsuitrusting en -management (ventilatiesystemen, systeem van stro-verdeling, systeem van uitmesten et cetera). Informatie over bedrijfsuitrusting en bedrijfsmanagement is voor deelnemende geitenhouderijen verzameld tijdens intakegesprekken en waar nodig is dit op een later moment aangevuld. Onderdeel daarvan was het verzamelen van informatie over bedrijfsprocessen en werkzaamheden, die mogelijk belangrijk kunnen zijn voor de aanwezigheid of uitstoot van ziekteverwekkers. Hieronder vallen onder meer: toegepaste rantsoenen, instrooimaterialen en instrooimethode, potstalmanagement, frequentie van aflammeren en uitmesten, management van mestopslag, omzetting van de mesthoop, aanwenden van de mest op eigen percelen, of elders. Deze bedrijfsprocessen en werkzaamheden werden met experts geïdentificeerd. En bij de monsternamebezoeken is geïnventariseerd hoe deze processen en werkzaamheden in de praktijk plaatsvinden.

Tabel 6.1 Verdeling van de 16 deelnemende bedrijven over categorieën van bedrijfsomvang

Aantal dieren op het bedrijf (in categorieën)	1-1000	1000-2000	2000+
Aantal bedrijven	5	7	4

Tabel 6.2 Verdeling van de 16 deelnemende bedrijven over provincies

Provincie	Gelderland	Limburg	Noord-Brabant	Overijssel	Utrecht
Aantal bedrijven	5	5	4	1	1

6.4.3 Enquêtes

In 2018 zijn de geitenhouders in Nederland via de NGZO benaderd voor het invullen van een vragenlijst. Deze diende ter voorbereiding van het VGO-III-onderzoek. In 2024 is, aanvullend op de eerdere vragenlijst, een internetenquête onder een groot deel van de melkgeitenhouders in de provincies Gelderland, Noord-Brabant en Limburg gehouden, uitgezet met behulp van adresgegevens uit openbare gegevens over vergunningen. Het doel van deze internetenquête was om verder inzicht te krijgen in het voorkomen van praktijksituaties (bedrijfs- en managementkenmerken) op Nederlandse geitenbedrijven.

6.4.4 Onderzoeksperiode

In totaal zijn er 31 monsternamebezoeken geweest in de periode november 2019 tot en met december 2021. Tijdens de monsternamebezoeken leefden de onderzoeksmederwerkers de op dat moment geldende RIVM-adviezen en WUR-regelgeving in verband met COVID-19-maatregelen strikt na. WUR verleende een ontheffing van het tijdens een deel van de onderzoeksperiode vigerende WUR-voorschrift om 1,5 meter afstand aan te houden tussen leden van de monsternameploeg. Deze ontheffing gold specifiek voor diergebonden monsternames, en op basis van een daarbij aan te houden hygiëneprotocol. In Tabel 6.3 staat een volledig overzicht van hoe de bedrijfsbezoeken waren verdeeld over het type stallen; en hoe de bezoeken aan melkgeitenstallen waren verdeeld over verschillende momenten in de bedrijfsvoering.

Tabel 6.3 Het type stal en moment van bezoek van de 31 bemonsteringsbezoeken

Type monsternamebezoek	Aantal bezoeken
Melkgeitenstal – regulier moment	11
Melkgeitenstal – uitmesten	7
Melkgeitenstal – aflammeren	4
Aflammerstal	3
Opfokstal	4
Omzetten mesthoop	2

6.4.5 Bedrijfsmetingen

De volgende typen monsters werden genomen tijdens de monsternamebezoeken aan stallen: geitenmonsters (neus- en keelswabs, bloed, huid/haar, stof), stromest uit de pot, mest-/composthoop, voer (ruwvoer, krachtvoer), strooisel (bedding), stof, drink-, afval- en slootwater, tankmelk en zowel actieve als passieve 24-uurs luchtmonsters. De passieve luchtmonsters werden genomen door plaatsing van een elektrostatische stofvanger (EDC). Bij de actieve luchtmonsternames is zowel de PM_{10}-fractie (fijnstof) als de PM_{100}-fractie (grof stof) op filters verzameld. Bij de actieve luchtmonsternames werd ook de concentratie van stofdeeltjes continu gemeten. Daarnaast werd vastgelegd welke activiteiten er op welke tijdstippen plaatsvonden. Bij monsternamebezoeken tijdens het omzetten van een mesthoop buiten de stal werden luchtmonsternames gedaan, boven- en benedenwinds van de mesthoop.

6.4.6 Laboratoriumbepalingen

De genomen monsters werden opgeslagen in Lelystad in het laboratorium van Wageningen Bioveterinary Research (WBVR). Daar werden de monsters onderzocht op de aanwezigheid van (groepen) bacteriën, virussen en schimmels door het analyseren van het genetische materiaal (DNA-/RNA-analyse). Om te kunnen zoeken naar ziekteverwekkers op de geitenbedrijven die mogelijk longontsteking kunnen veroorzaken bij omwonenden, is gekozen voor een brede aanpak van genetische sequencing die de gehele microbiële populatie (microbioom) in kaart kan brengen. Dit gebeurde in een aantal stappen: als eerste werd het biologische materiaal zoveel mogelijk fysiek gescheiden van drager of geconcentreerd uit grote volumina. Vervolgens werd hieruit het totale microbiële DNA en RNA geïsoleerd met methoden specifiek gericht op bacteriën en schimmels (enkel DNA) of op virussen (DNA en RNA). Vervolgens werd dit met *deep-sequencing* geanalyseerd op de genetische samenstelling.

In de totale genetische samenstelling van de microbiële populatie zijn met behulp van desktop-analyses mogelijk relevante ziekteverwekkers geïdentificeerd. Hierbij werd gebruikgemaakt van de lijst met ziekteverwekkers uit het literatuuronderzoek (hoofdstuk 4). Daarnaast is het microbioom gemeten in de luchtmonsters, vergeleken met dat gemeten in de verschillende andere typen omgevingsmonsters, om zo aanwijzingen te krijgen welk deel van de microbiële populatie in de stal-lucht toe te schrijven is aan welke bron in de stal. Naast het voorkomen van specifieke relevante ziekteverwekkers, is ook de totale microbiële samenstelling vergeleken tussen bedrijven om mogelijke associaties met bedrijfsfactoren te onderzoeken.

6.5 Luchtmetingen leefomgeving

6.5.1 Opzet onderzoek

Luchtmetingen in de leefomgeving van omwonenden van geitenhouderijen zijn uitgevoerd om te onderzoeken: 1) of micro-organismen in de lucht aangetoond kunnen worden, die mogelijk in verband staan met de verhoogde incidentie van longontsteking bij omwonenden; en 2) of de aanwezigheid van deze micro-organismen gerelateerd zijn aan afstand tot geitenhouderij. Het doel van dit onderzoek is om antwoorden te krijgen op de specifiek de volgende vraagstellingen:

1. Welke mogelijk relevante micro-organismen komen voor in de lucht in de leefomgeving?
2. Wat is het verband tussen aanwezigheid van deze micro-organismen in lucht op leefniveau met afstand tot geitenhouderij?

De algemene opzet bestond uit het nemen, en in het laboratorium onderzoeken van monsters van de buitenlucht, die herhaaldelijk over tijd verzameld werden in de tuinen van omwonenden. Hierdoor kon onderzocht worden welke mogelijke relevante micro-organismen voorkomen in de buitenlucht in de leefomgeving. De samenstelling van de verzamelde buitenluchtdeeltjes wordt bepaald door verschillende bronnen in de omgeving. De afstanden tot veehouderijen zijn berekend door geografische analyses met gegeocodeerde veehouderijgegevens en woonadressen van de meetlocaties.

6.5.2 Meetlocaties

De luchtmetingen zijn uitgevoerd op negen locaties, verspreid over Noord-Brabant en Limburg. De keuze voor het soort en aantal locaties was gebaseerd op een eerder onderzoek, waarbij temporele en spatiële variatie en determinanten van *C. burnetii* in de lucht kon worden bepaald.[3] De meetopstellingen werden geplaatst in tuinen bij woonhuizen, gelegen in zowel de nabijheid van geitenhouderijen als verder weg. De onderzoekers hebben zelf geschikte locaties uitgekozen. Hierbij is rekening gehouden met spreiding over het gebied. Van de uiteindelijk geïncludeerde meetlocaties, bevonden acht locaties zich op een afstand binnen 0,6 kilometer van minstens één geitenhouderij. Daarnaast was er één locatie die op meer dan 3 km afstand lag van een geitenhouderij, deze diende als referentielocatie.

6.5.3 Onderzoeksperiode en monstername

In totaal zijn er gedurende 33 weken luchtmetingen uitgevoerd in de periode april 2021 tot en met november 2021. De metingen zijn uitgevoerd met filter-gebaseerde meetmethodiek, waardoor in de lucht aanwezige deeltjes worden opgevangen, waaronder eventuele ziekteverwekkers. De fijnstof-fractie (PM_{10}), dus de kleine in de lucht aanwezige deeltjes, is bemonsterd met filterhoudende monsternamekoppen (Harvard Impactors), aangesloten op pompen, ingesteld op 10 liter per minuut. Het monsternamefilter is wekelijks op iedere locatie vervangen en opgeslagen. Daarnaast zijn ook wekelijks niet aan lucht blootgestelde filters verzameld als controles. De meetkoppen met deze filters werden niet aangesloten op pompen, zodat geen actieve luchtpassage plaatsvond (veldblanco's). In totaal zijn er 282 filters verzameld, Tabel 6.4 geeft een overzicht van het aantal filters per locatie. Het maximale aantal was 33 filters per locatie, wanneer in iedere meetweek één filter werd verzameld. Door incidentele storingen in de monsternameapparatuur, dan wel elektriciteit, is dit niet op iedere locatie gelukt.

Tabel 6.4 Overzicht van het aantal verzamelde filters per meetlocatie

Meetlocatie	Aantal verzamelde filters	Afstand tot dichtstbijzijnde geitenbedrijf (in km)
1	32	3
2	31	0,6
3	32	0,1
4	32	0,2
5	31	0,2
6	29	0,1
7	33	0,2
8	29	0,5
9	33	0,4

6.5.4 Laboratoriumbepalingen

Na verzameling zijn de filters opgeslagen bij -80 graden Celsius in het laboratorium van Universiteit Utrecht-IRAS. In dat laboratorium heeft de extractie van de monsters plaatsgevonden om het genetische materiaal (DNA) te isoleren. Vervolgens zijn de extracten naar het laboratorium van het RIVM gebracht. Daar zijn de op 16S rRNA-gen gerichte analyses uitgevoerd: 1) sequencing (16S) om de totale samenstelling en relatieve hoeveelheden van bacteriën in kaart te brengen; en 2) qPCR om de bacteriële hoeveelheid te kwantificeren.

6.5.5 Statistische analyses

Gezien de gevoeligheid van de methode en de herhaalde metingen op de meetlocaties, is aanwezigheid in de leefomgeving in de lucht als volgt gedefinieerd: minimaal 10 procent van de luchtmonsters genomen nabij geitenhouderijen zijn positief voor het betreffende micro-organisme. Vanwege de steekproefgrootte werd de Fisher's exact-toets gebruikt om te testen of de aanwezigheid van relevante micro-organismen in de luchtmonsters verschillend was voor de meetlocaties dicht bij een geitenhouderij versus verder weg.

6.6 Persoonlijke blootstellings-metingen geitenhouders en werknemers

Om meer inzicht te krijgen in werkgerelateerde blootstelling aan (fijn)stof op geitenhouderijen en daarmee gepaarde potentiële gezondheidsrisico's voor geitenhouders (inclusief hun werknemers), zijn er persoonlijke blootstellingsmetingen uitgevoerd. Deze metingen zijn uitgevoerd tussen juni 2021 en december 2021. De deelnemers aan dit onderzoek zijn geworven onder geitenhouders die deelnamen aan de gezondheidsstudie en onder de deelnemers van de geitenbedrijvenstudie.

Voor uitvoering van de blootstellingsmetingen zijn alle deelnemende bedrijven tweemaal bezocht. Bij elk bedrijfsbezoek zijn telkens minstens twee werknemers geïncludeerd voor wie gedurende hun werkperiode van minstens vier uur blootstelling gemeten is. De deelnemers werden hiervoor voorzien van draagbare luchtmeetapparatuur, die aan de werkkleding bevestigd werd. De luchtmeetapparatuur betrof onder meer twee meetkoppen die op borsthoogte gedragen werden en elk voorzien waren van een Teflon-filter om hierop respectievelijk de PM_{100}- en PM_{10}- stoffracties op te vangen. De meetkoppen werden via een rubberen slang gekoppeld aan een pomp, die de lucht uit de directe omgeving door de meetkop met het filter zoog. De deelnemers hielden voor de bemeten werkdag bij hoeveel tijd ze aan verschillende taken besteedden. Naast (fijn)stof is ook de hoeveelheid endotoxinen bepaald die op de filters zijn terechtgekomen.

6.7 Integratie gezondheidsstudies, geitenbedrijvenstudie en lucht-metingen in de leefomgeving

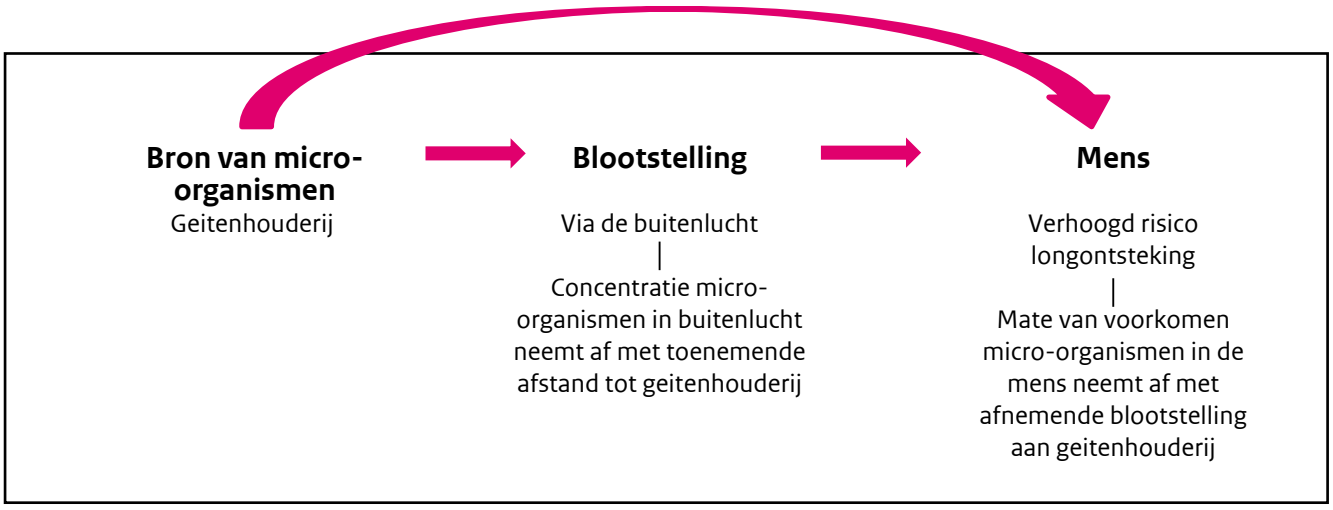
De resultaten van de afzonderlijke deelstudies van VGO-III waarvan de methoden zijn beschreven in hoofdstuk 6 (paragraaf 6.1-6.6) zijn samengebracht in een geïntegreerde analyse. In deze 'resultaten-synthese' is de consistentie en bewijslast van de resultaten uit de verschillende deelstudies systematisch geëvalueerd. Dit om een antwoord te kunnen geven op de vraag wat de oorzaak zou kunnen zijn van het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen.

6.7.1 Hoofdhypothese

Als startpunt van de synthese werkten de onderzoekers met de hoofdhypothese dat geitenhouderij de bron is van één of meerdere micro-organismen (bacteriën, schimmels of virussen) die zich verspreiden via de lucht naar omwonenden (Figuur 6.1). De hypothese omvatte de volgende deelhypotheses:

- deze micro-organismen zijn op meerdere geiten-houderijen aanwezig en dus niet zeldzaam;
- deze micro-organismen komen voor in de stallucht van geitenhouderijen;
- deze micro-organismen worden in hogere concentraties gevonden in de buitenlucht op kortere afstand van een geitenhouderij dan verder weg;
- deze micro-organismen kunnen longontsteking veroorzaken bij blootgestelde;

Figuur 6.1 Schematische weergave van deelhypotheses die ten grondslag liggen aan de bewijssynthese



- deze micro-organismen worden ook in grotere mate aangetroffen bij mensen met een hogere blootstelling aan geitenhouderij zonder dat het tot gezondheids-klachten leidt. Hoge blootstelling vindt plaats bij geitenhouders en werknemers, of mensen die dichter bij een geitenhouderij wonen vergeleken met mensen die verder weg wonen;
- deze micro-organismen worden bij mensen met een longontsteking even vaak of vaker aangetroffen vergeleken met mensen zonder longontsteking.

De bovenstaande deelhypotheses zorgden voor een theoretisch kader bij de resultaten-synthese. Bij de synthese aggregeerden de onderzoekers het bewijs als een opstelsom van de resultaten van deelstudies: hoe meer resultaten in een bepaalde richting wijzen, hoe sterker de aanwijzing dat een bepaalde oorzaak (in dit geval één of meerdere micro-organismen) wel, of juist niet, een rol speelt bij het verhoogde risico op longontsteking. Het is mogelijk dat niet alle deelhypotheses die voor één of meerdere micro-organismen in werkelijkheid kloppen, ook in de praktijk worden bevestigd. Het VGO-III-onderzoek kent diverse beperkingen (die in hoofdstuk 8 worden besproken), waardoor delen van de onderliggende werkelijkheid mogelijk niet kunnen worden aangetoond.

De resultaten-synthese van VGO-III had als einddoel om een lijst samen te stellen van micro-organismen, die afzonderlijk een bepaalde mate van theoretisch bewijs leveren om de onderzoeksvraag te kunnen beantwoorden. De verdere interpretatie van deze micro-organismen is onderdeel van hoofdstuk 8 (Conclusies en discussie).

6.7.2 Resultaten-synthese I: van geitenhouderij (shortlist) naar longontsteking

In de resultaten-synthese werd eerst gekeken naar alle micro-organismen (virussen, schimmels of bacteriën) die: 1) op meerdere geitenhouderijen aanwezig zijn en dus niet zeldzaam zijn; 2) voorkomen in de stallucht van geiten-houderijen; en: 3) mogelijk een longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken (op basis van bestaande literatuur).

Micro-organismen die aan deze drie criteria voldeden, kwamen op de 'shortlist geitenhouderij' die in paragraaf 7.3.3.2 van de geitenbedrijvenstudie beschreven wordt. De andere twee deelstudies (Gezondheidsmetingen en Luchtmetingen leefomgeving) kunnen aanvullende bewijs-last opleveren voor de micro-organismen op deze shortlist, volgens een systematische evaluatie beschreven in Tabel 6.5 die voor elk van deze micro-organismen is doorlopen.

Tabel 6.5 Resultaten-synthese: systematische evaluatie van resultaten voor micro-organismen op de shortlist geitenhouderij

Resultaat voor micro-organismen op de shortlist geitenhouderij	Mate van bewijslast voor resultaten-synthese
Deelstudie luchtmetingen leefomgeving	
1. Aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving.	Bewijs voor aanwezigheid in de buitenlucht. Andere bronnen (bijvoorbeeld mensen, andere dieren, andere omgevingsbronnen) dan geitenhouderij zijn niet uitgesloten.
2. Afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving met afstand tot geitenhouderij.	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. (Enige) relatie met geitenhouderij is aannemelijk.
Deelstudie gezondheid	
3. Aanwezigheid in controlepersonen.	Bewijs dat deze micro-organismen bij omwonenden aangetroffen worden.
4. Aanwezigheid in patiënten.	Bewijs dat deze micro-organismen bij patiënten aangetroffen worden, en daarmee kandidaat zijn om aan de hoofdhypothese te voldoen.
5. Sterkere aanwezigheid in patiënten dan in controlepersonen.	Aanvullend (t.o.v. 4) bewijs dat deze micro-organismen kandidaat zijn om aan de hoofdhypothese te voldoen.
6. Sterkere aanwezigheid bij geitenhouders dan bij controlepersonen.	Aanwijzing voor mogelijke overdracht via de lucht in de werkomgeving, maar geen aanwijzing voor verspreiding naar omwonenden. Daardoor beperkt bewijs.
7. Afnemende mate van voorkomen bij patiënten en/of controlepersonen met woonafstand tot geitenhouderij.	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding van geitenhouderij naar omwonenden. (enige) Relatie met geitenhouderij is aannemelijk.

6.7.3 Resultaten-synthese II: van longontsteking naar geitenhouderij

In een tweede evaluatie als onderdeel van de resultaten-synthese werden de micro-organismen geëvalueerd die niet voorkwamen op de shortlist geitenhouderij, maar waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast opleverde. De synthese nam hierbij dus niet de resultaten van de geitenbedrijvenstudie, maar van de gezondheidsstudie als uitgangspunt.

In deze tweede resultaten-synthese werd eerst gekeken naar alle micro-organismen (virussen, schimmels of bacteriën), die: 1) sterker aanwezig zijn in patiënten dan in controlepersonen; en/of: 2) sterker aanwezig zijn in geitenhouders dan in controlepersonen; en/of: 3) in afnemende mate voorkomen met woonafstand tot geitenhouderij, bij patiënten en/of controlepersonen.

De andere twee deelstudies (Geitenbedrijven en Luchtmetingen leefomgeving) kunnen aanvullende bewijslast opleveren voor de micro-organismen die aan één of meerdere van deze drie criteria voldoen, volgens een systematische evaluatie beschreven in Tabel 6.6.

6.7.4 Alternatieve hypothese

Een andere/alternatieve hypothese is dat blootstelling aan niet-infectieuze luchtverontreiniging vanuit de geitenhouderij, ervoor kan zorgen dat omwonenden een hoger risico hebben op longontsteking. We richtten ons daarbij op stof en/of endotoxine. Om een overzicht te geven van de resultaten die relevant zijn voor deze alternatieve hypothese, maakten we gebruik van onderzoek gedaan binnen VGO-III en eerder onderzoek. Deze resultaten vallen uiteen in drie aspecten: geitenhouderijen als bron van stof en endotoxine, blootstelling via de buitenlucht in de leefomgeving, en bevindingen vanuit studies bij de mens.

Tabel 6.6 Resultaten-synthese: systematische evaluatie van resultaten voor micro-organismen die niet voorkomen op de shortlist geitenhouderij, maar waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert

Resultaat voor micro-organismen die niet voorkomen op de shortlist geitenhouderij	Mate van bewijslast voor resultaten-synthese
Deelstudie luchtmetingen leefomgeving	
1. Aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving.	Bewijs voor aanwezigheid in de buitenlucht. Andere bronnen (bijvoorbeeld mensen, andere dieren, andere omgevings-bronnen) dan geitenhouderij zijn niet uitgesloten.
2. Afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving met afstand tot geitenhouderij.	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. (enige) Relatie met geitenhouderij is aannemelijk.
Deelstudie Geitenbedrijven	
3. Aanwezigheid in de luchtmonsters.	Bewijs voor (in elk geval minimale) aanwezigheid in de lucht in geitenhouderijen.

6.8 Literatuurlijst

1. Overbeek, L. Nivel Zorgregistraties Eerste Lijn - databron ziekten en zorg in de eerste lijn. Uit: www.nivel.nl [Laatst gewijzigd op 11-04-2024; geraadpleegd op 25-04-2024]. URL: www.nivel.nl/nl/panels-en-registraties/nivel-zorgregistraties-eerste-lijn
2. CBS Statline, Landbouw; gewassen, dieren en grondgebruik naar bedrijfstype, nationaal. Uit: www.cbs.nl [Laatst gewijzigd op 29-03-2024; geraadpleegd op 19=08=2024]. URL: www.cbs.nl/nl-nl/cijfers/detail/80782ned?dl=36EF3
3. De Rooij MMT, Borlée F, Smit LAM, et al. Detection of *Coxiella burnetii* in Ambient Air after a Large Q Fever Outbreak. PLoS One. 2016; 11(3):e0151281.

7 Resultaten

7.1 Studies Gezondheidsmetingen

Gedurende de periode van augustus 2020 tot april 2023 zijn in totaal 108 patiënten met longontsteking in de studie geïncludeerd. Deze 108 patiënten zijn afkomstig uit dertien verschillende huisartspraktijken. Tabel 7.1 geeft het aantal geïncludeerde patiënten per huisartspraktijk weer, en per huisartspraktijk het percentage van deze patiënten dat binnen 2.000 meter van een geitenhouderij woont. In totaal woonde 62 procent van de patiënten binnen 2.000 meter van een geitenhouderij.

Tabel 7.1 Overzicht van het aantal geïncludeerde patiënten per huisartspraktijk, en per praktijk het percentage van de patiënten dat binnen 2.000 meter van een geitenhouderij woont

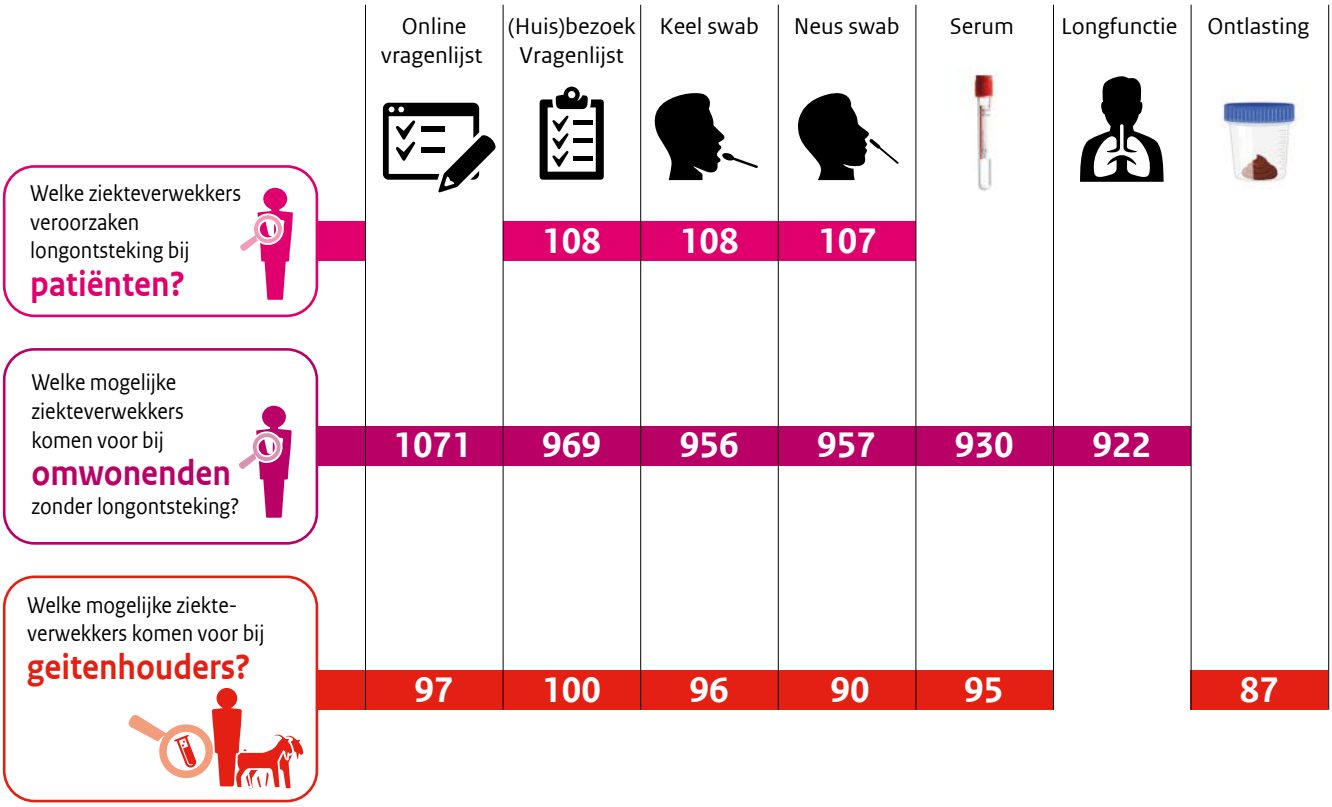
Huisarts-praktijk	Aantal geïncludeerde patiënten	Percentage geïncludeerde patiënten, woonachtig binnen 2 km van een geitenhouderij
A	11	73%
B	27	78%
C	1	0%
D	9	56%
E	1	0%
F	13	69%
G	2	0%
H	2	100%
I	2	0%
J	13	15%
K	9	56%
L	10	100%
M	8	63%
Totaal	108	62%

Bij alle 108 geïncludeerde patiënten zijn korte vragenlijsten afgenomen. Ook zijn 108 neusswabs en 107 keelswabs verzameld. Er zijn 969 controlepersonen aan huis bezocht. Bij alle personen is een vragenlijst afgenomen, en er zijn 957 neusswabs, 956 keelswabs, 925 bloedmonsters en 919 longfunctietesten verzameld. Er zijn 100 geiten-houders dan wel werknemers geïncludeerd, waarbij er 100 korte vragenlijsten zijn afgenomen (bij 97 ook de uitgebreide vragenlijst). 90 neusswabs, 96 keelswabs, 95 bloedmonsters en 87 ontlastingsmonsters zijn verzameld (zie Figuur 7.1).

7.1.1 Vragenlijsten

De beknopte vragenlijsten die zijn afgenomen tijdens ofwel het bezoek aan huis, dan wel het bezoek aan de huisarts in combinatie met de uitgebreide online vragenlijst, geven (voor de controlepersonen en geitenhouders) veel informatie over de algemene gezondheid en het medicijngebruik van de deelnemers. In Tabel 7.2 is de belangrijkste informatie weergegeven, die we voor (vrijwel) alle deelnemers verzameld hebben. Deze tabel geeft weer op welke punten de drie studiepopulaties veel met elkaar gemeen hebben en waar ze van elkaar verschillen.

Figuur 7.1 Overzicht van het aantal verzamelde monsters en vragenlijsten per studiepopulatie: patiënten, omwonenden (dwz controlepersonen) en geitenhouders/werknemers



Tabel 7.2 Algemene kenmerken en gegevens over gezondheid, weergegeven per studiepopulatie

	Patiënten (n=108)	Controlepersonen (n=969)	Geitenhouders en werknemers (n=100)
Periode van inclusie	aug '20 – apr '23	aug '21 – jul '22	dec '20, mrt '21 – feb '22
Moment van inclusie			
Herfst	32 (29,6%)	204 (21,1%)	29 (29,0%)
Winter	41 (38%)	295 (30,4%)	41 (41,0%)
Lente	19 (17,6%)	339 (35,0%)	0 (0%)
Zomer	16 (14,8%)	131 (13,5%)	30 (30,0%)
Leeftijd			
gem. ±SD	61,5 (±17,4)	63,8 (±10,0)	41,0 (±14,5)
Onbekend	2 (1,9%)	0 (%)	4 (4,2%)
Geslacht			
Man	50 (46,3%)	474 (48,9%)	55 (55,0%)
Vrouw	53 (49,1%)	495 (51,1%)	45 (45,0%)
Onbekend	5 (4,6%)	0 (0%)	0 (0%)

	Patiënten (n=108)	Controlepersonen (n=969)	Geitenhouders en werknemers (n=100)
Rookgedrag			
Huidig	14 (13,0%)	44 (4,5%)	14 (14,0%)
Ooit	50 (46,3%)	483 (49,8%)	14 (14,0%)
Nooit	43 (39,8%)	431 (44,4%)	68 (68,0%)
Onbekend	1 (0,9%)	11 (1,1%)	4 (4,0%)
Astma *			
Ooit	17 (15,7%)	67 (6,9%)	13 (13%)
Nooit	91 (84,3%)	892 (92,1%)	83 (83%)
Onbekend	0 (0%)	10 (1,0%)	4 (4%)
COPD/Emfyseem **			
Ja	19 (17,6%)	55 (5,7%)	1 (1,0%)
Nee	89 (82,4%)	901 (93,0%)	95 (95%)
Onbekend	0 (0%)	13 (1,3%)	4 (4%)
Longmedicatie			
Ja	34 (31,5%)	78 (8,0%)	4 (4,0%)
Nee	72 (66,7%)	891 (92,0%)	96 (96,0%)
Onbekend	2 (1,9%)	0 (0%)	0 (0%)
Immuundeficiëntie			
Ja	8 (7,4%)	34 (3,5%)	2 (2,0%)
Nee	97 (89,8%)	935 (96,5%)	98 (98,0%)
Onbekend	3 (2,8%)	0 (0%)	0 (0%)
Vaccinaties***			
Griep	64 (59,3%)	531 (54,9%)	10 (10,0%)
Pneumokokken	29 (26,9%)	279 (28,9%)	11 (11,0%)
Verblijf buitenland in vier weken voor monsterafname	7 (6,5%)	151 (15,6%)	6 (6,0%)
Woonachtig <2.000m geitenhouderij	67 (62,0%)	398 (41,1%)	NVT
Woonachtig <1.000m geitenhouderij	15 (13,9%)	125 (12,7%)	NVT
Woonachtig <500m geitenhouderij	1 (0,9%)	7 (0,7%)	NVT

* *Bij patiënten is uitgevraagd of ze astma hebben op het moment van het bezoek aan de huisarts. Aan controlepersonen en geitenhouders en werknemers is uitgevraagd of ze ooit astma gehad hebben.*

** *Bij patiënten is uitgevraagd of ze aan COPD lijden. Aan de controlepersonen en geitenhouders en werknemers is gevraagd of ze aan COPD/Emfyseem lijden.*

*** *Van de griepvaccinatie is bekend sinds wanneer de deelnemer deze jaarlijks ontvangt. Van de pneumokokkenvaccinatie is bekend of deze ontvangen is of niet.*

Uit de tabel blijkt een klein verschil in gemiddelde leeftijd tussen controlepersonen en patiënten. Daarentegen zijn de geitenhouders en werknemers gemiddeld duidelijk jonger. Dit verschil in leeftijd is ook terug te gezien in de percentages gevaccineerden onder de studiepopulaties, omdat ouder zijn dan 60 een indicatie is voor het ontvangen van deze vaccinatie. Patiënten en controlepersonen zijn aanzienlijk vaker gevaccineerd tegen griep en pneumokokken dan geitenhouders. De verdeling man-vrouw is nagenoeg hetzelfde voor alle studiepopulaties, al is het percentage mannen onder de geitenhouders en werknemers hoger. Ook is de woonafstand tot geitenhouderij redelijk gelijk verdeeld tussen de patiënten en controlepersonen. Wat betreft roken, is het belangrijkste verschil dat een groter deel van de geitenhouders en werknemers nooit gerookt heeft. Het percentage huidige rokers is vergelijkbaar voor patiënten en geitenhouders en werknemers en een stuk lager voor controlepersonen. Onder de patiënten is er een beduidend grotere groep waarbij sprake is van onderliggend (respiratoir) lijden in vergelijking met de controlepersonen en geitenhouders. Dit blijkt uit de hogere percentages van patiënten die lijden aan astma, COPD en/of emfyseem, immuundeficiënties en het hogere percentage patiënten die longmedicatie gebruiken.

Patiënten
De gemiddelde leeftijd van patiënten was 61,5 jaar (standaarddeviatie (SD) ± 17,4), wat vergelijkbaar is met de controlepersonen, maar hoger dan de geitenhouders en werknemers. Van het totale aantal patiënten waren er 67 patiënten (62%) woonachtig binnen 2.000 meter van een geitenhouderij. Ook is er bij de patiënten uitgevraagd of zij wonen of werken op een veehouderijbedrijf. Dit was het geval bij één patiënt (0,9%), waarbij het een andere diersoort dan geiten betrof.

Voor de patiëntengroep waren ook gegevens beschikbaar over de vermoedelijke longontsteking-diagnose, die niet in de tabel vermeld staan. Zo zaten er gemiddeld 8,3 dagen (mediaan van 7 dagen, spreiding 1-49 dagen) tussen de eerste ziektedag en het moment dat de patiënt zijn/haar huisarts consulteerde voor een mogelijke longontsteking. De meerderheid van de patiënten rapporteerde klachten zoals koorts (53%), benauwdheid (74%) en hoesten (96%). Ook pijn bij ademhaling (16%), verhoogde hartslag (22%) en een versnelde ademhaling (26%) werden gemeld. Bij 73 patiënten werd door de huisarts een C-reactieve proteïne (CRP)-test uitgevoerd. Dat betreft een vingerprik waarbij de acute ontstekingswaarde in het bloed gemeten wordt. Een verhoogde CRP is indicatief voor een bacteriële infectie. De uitslagen van de CRP-testen bij de groep patiënten varieerde tussen de 5 en >200 mg/L, waarbij 27 patiënten een CRP-waarde hadden van 100 mg/L of meer, wat indicatief is voor een bacteriële infectie.

Controlepersonen
De gemiddelde leeftijd van de controlepersonen was 63,8 jaar (SD ± 10,0). Iets minder dan de helft (46,4%) gaf aan met pensioen te zijn. Alle controlepersonen waren niet werkzaam of woonachtig op een veehouderij. Desondanks gaf een ruime meerderheid van de controlepersonen (75,9%) aan contact met dieren te hebben gehad de afgelopen 4 weken, 71,9 procent met gezelschapsdieren en 23,0 procent met landbouwhuisdieren (hobbymatig).

Aangaande hun algemene gezondheid gaf deze groep zichzelf een gemiddelde score van 3,8 uit 5, waarbij 1 slecht is en 5 goed. Over het medicijngebruik in het afgelopen jaar rapporteerde 12,0 procent van de deelnemers antibioticagebruik, 21,6 procent maagzuurremmers, 8,0 procent longmedicatie en 7,8 procent bètablokkers. In de vragenlijst gaf 7,0 procent (68 personen) aan een longontsteking doorgemaakt te hebben in de laatste drie jaar, waarvan 2,3 procent in het afgelopen jaar. Dertien van de 68 personen gaven aan meer dan één longontsteking te hebben gehad. Betreffende respiratoire infecties het afgelopen jaar, 36,5 procent van de deelnemers rapporteerde een SARS-CoV-2-infectie en 18,2 procent een andere (niet SARS-CoV-2 zijnde) acute respiratoire infectie. Meer algemene luchtweg gerelateerde symptomen in het jaar voorafgaand aan deelname zijn weinig gerapporteerd; hoesten werd het vaakst genoemd (16,8%), gevolgd door slijm ophoesten (13,9%).

Geitenhouders en werknemers
In deze populatie bestond een groot verschil in leeftijd tussen de geitenhouders en werknemers van geiten-houderijen. De geitenhouders (n=67) waren gemiddeld 46,3 jaar oud (SD ± 12,4) tegenover 28,7 jaar (SD ± 11,1) als gemiddelde leeftijd onder de werknemers (n=33).

Van alle deelnemers woonden 58 personen bij de geiten-houderij. Gemiddeld werkten de deelnemers 45,6 uur per week op het bedrijf, waarbij geitenhouders aanzienlijk meer werkten (52,8 ± 28,3) dan werknemers (28,0 ± 14,8). Gemiddeld werkten de deelnemers 15,5 jaar op het bedrijf, wederom liggen de getallen hoger bij de geitenhouders (20,3 ± 12,4) ten opzichte van de werknemers (4,7 ± 5,5). In deze populatie heeft 28 procent aangegeven te roken of ooit gerookt te hebben.

Aangaande hun algemene gezondheid gaf deze groep zichzelf een gemiddelde score van 4,2 uit 5. Dit sluit aan bij andere gezondheidsindicatoren die zijn uitgevraagd. Onder de geitenhouders en werknemers rapporteerde 6 procent in het afgelopen jaar een antibioticum te hebben gebruikt, 8 procent maagzuurremmers, 4 procent longmedicatie en 3 procent bètablokkers. Er zijn 3 personen (3%) die een longontsteking hebben gehad in de afgelopen

3 jaar, waarvan 2 in het afgelopen jaar. Twee van de drie personen gaven aan meer dan één longontsteking te hebben gehad. Respiratoire infecties zoals SARS-CoV-2 zijn door 12 procent en andere acute respiratoire infecties zijn door 24 procent van de deelnemers gerapporteerd. Algemenere luchtweggerelateerde symptomen in het jaar voorafgaand aan deelname werden weinig gerapporteerd. Hoesten werd het vaakst genoemd (16%), samen met slijm ophoesten (15%).

Conclusie
De verhoudingen tussen de groepen wat betreft geslacht en afstand tot geitenhouderij zijn dusdanig, dat we de groepen goed onderling kunnen vergelijken in de analyses. Wat betreft de gemiddelde leeftijd waren de patiënten en controlepersonen redelijk vergelijkbaar, maar de geitenhouders en werknemers waren duidelijk jonger. Voor roken zijn er verschillen tussen de groepen, zoals een hoger percentage huidige rokers onder de patiënten en geitenhouders. Onder de patiënten zien we, zoals verwacht, meer signalen van onderliggend respiratoir lijden dan in de andere populaties.

De gemiddelde leeftijd van de patiënten past binnen de algemene populatie van patiënten met een longontsteking, waarbij met name oudere personen vatbaar zijn voor een longontsteking. De symptomen die zij rapporteerden zijn passend bij een longontsteking.

Over het algemeen betreft de populatie geitenhouders en werknemers een relatief jonge en gezonde groep deelnemers.

7.2 Laboratoriumbepalingen en analyses gezondheidsmetingen

7.2.1 PCR (multiplex-pathogeen en enkel-pathogeen)

7.2.1.1 Vergelijking studiegroepen voor aangetoonde micro-organismen

De PCR-testen zijn uitgevoerd op de keel- en neusswabs van 108 patiënten, 200 controlepersonen en 91 geitenhouders en werknemers. Van de in totaal 35 geteste micro-organismen en virussen met de PCR (zie Bijlage 1), werden 8 micro-organismen en/of virussen in geen van de swabs van de deelnemende patiënten, controlepersonen en geitenhouders aangetoond, namelijk: *Chlamydia pneumoniae*, *Coxiella burnetii*, *Legionella pneumophila*, *Mycoplasma pneumoniae*, coronavirus NL63, humaan parainfluenza virus type 2, humaan parechovirus, en influenzavirus type B.

Bij 53 procent van de patiënten werd minimaal één van de geteste virussen aangetoond. Voor de controlepersonen en geitenhouders was dit percentage lager, respectievelijk 19 procent en 28 procent. Bij 89 procent van de patiënten, 64 procent van de controlepersonen en 85 procent van de geitenhouders werd minimaal één bacterie aangetoond. Deze percentages van minimaal één aangetoonde bacterie zijn vergelijkbaar met andere wetenschappelijke studies waarin een vergelijkbare multiplex PCR-techniek gebruikt is.1-4 Dat een bacterie is aangetoond via multiplex PCR betekent niet direct dat dit ook de veroorzaker van de ziekte is. Een aangetoonde bacterie kan ook commensaal aanwezig zijn, zoals bijvoorbeeld *S. pneumoniae*.

Iedere aangetoonde bacterie, virus of schimmel is ook apart vergeleken tussen de drie studiegroepen. Tabel 7.3 geeft een overzicht van het aantal en het percentage personen per studiegroep (patiënten, controlepersonen en geitenhouders) waarbij het geteste micro-organisme werd aangetoond in de keel- en/of neusswab. Omdat bepaalde micro-organismen maar in lage aantallen zijn aangetoond, is er niet gecorrigeerd voor verstorende variabelen (zoals leeftijd, geslacht, roken en onderliggend lijden). *Moraxella catarrhalis* en *Streptococcus pneumoniae*, twee bacteriën die longontsteking kunnen veroorzaken, werden significant vaker aangetoond in de keel- en/of neusswabs van patiënten ten opzichte van de controlepersonen en ten opzichte van de geitenhouders. Daarentegen werden *Salmonella species* en *Staphylococcus aureus* juist vaker aangetoond in de swabs van de geitenhouders in vergelijking met die van de patiënten en controlepersonen. Veel van de respiratoire virussen werden in hogere mate aangetoond bij de groep patiënten in vergelijking met de controlepersonen, namelijk enterovirus, humaan metapneumovirus A/B, humaan parainfluenzavirus type 3, humaan parainfluenzavirus type 4, Influenza A (H1N1) pdm09, rhinovirus en RS-virus A/B. Deze virussen zijn allen veelvoorkomende verwekkers van luchtwegklachten bij de mens en kunnen longontsteking veroorzaken, waardoor het te verwachten valt dat deze vaker voorkomen in de patiëntengroep. SARS-CoV-2, het virus dat COVID-19 veroorzaakt, werd in alle drie de groepen aangetoond, maar er waren geen significante verschillen tussen de drie groepen deelnemers.

Tabel 7.3 Uitslagen PCR-testen per micro-organisme (alleen diegenen getoond die minstens één keer zijn gedetecteerd), weergegeven als aantal en percentage positief getest: vergelijking van de groepen patiënten, controlepersonen en geitenhouders en werknemers

	Aantal positief (%)			p-waarde*			
Micro-organisme	Patiënten (GP) N=108	Controle-personen (CP) N=200	Geiten-houders (GF) N=91	Alle groepen	GP vs. CP	GF vs. GP	GF vs. CP
Bacteriën							
Bordetella species	1 (0,9)	5 (2,5)	0	0,42	0,67	1,00	0,33
Haemophilus influenzae	52 (48,1)	50 (25,0)	40 (44,0)	**<0,0001**	**<0,0001**	0,57	**0,002**
Haemophilus influenzae B	1 (0,9)	0	0	0,50	0,35	1,00	NA
Klebsiella pneumoniae	3 (2,8)	1 (0,5)	3 (3,3)	0,089	0,126	1,00	0,092
Moraxella catarrhalis	37 (34,3)	24 (12,0)	8 (8,8)	**<0,0001**	**<0,0001**	**<0,0001**	0,54
Salmonella species	4 (3,7)	0	16 (17,6)	**<0,0001**	**0,015**	**0,002**	**<0,0001**
Staphylococcus aureus	29 (26,9)	63 (31,5)	45 (49,5)	**0,002**	0,44	**0,001**	**0,004**
Streptococcus pneumoniae	38 (35,2)	40 (20,0)	20 (22,0)	**0,013**	**0,004**	**0,044**	0,76
Virussen							
Coronavirus 229E	0	1 (0,5)	2 (2,2)	0,20	1,00	0,21	0,23
Coronavirus HKU1	1 (0,9)	2 (1,0)	0	1,00	1,00	1,00	1,00
Coronavirus OC43	1 (0,9)	2 (1,0)	2 (2,2)	0,72	1,00	0,59	0,59
Enterovirus	5 (4,6)	1 (0,5)	2 (2,2)	**0,028**	**0,021**	0,46	0,231
Humaan adenovirus	3 (2,8)	2 (1,0)	1 (1,1)	0,49	0,35	0,63	1,00
Humaan bocavirus	1 (0,9)	2 (1,0)	1 (1,1)	1,00	1,00	1,00	1,00
Humaan metapneumovirus A/B	13 (12,0)	0	0	**<0,0001**	**<0,0001**	**0.0003**	NVT
Humaan para influenzavirus 1	1 (0,9)	0	0	0,50	0,35	1,00	NVT
Humaan para influenzavirus 3	6 (5,6)	0	0	**0,0005**	**0,0017**	**0,032**	NVT
Humaan para influenzavirus 4	3 (2,8)	0	0	**0,031**	**0,042**	0,252	NVT
Influenzavirus type A (subtype niet bekend)	2 (1,9)	1 (0,5)	1 (1,1)	0,45	0,28	1,00	0,53
Influenza A(H1N1)pdm09	3 (2,8)	0	0	0,031	**0,042**	0,25	NVT
Influenzavirus type C	0	1 (0,5)	0	1,00	1,00	NVT	1,00
Rhinovirus	17 (15,7)	11 (5,5)	10 (11,0)	**0,012**	**0,006**	0,408	0,140
RS-virus A/B	4 (3,7)	0	0	**0,0077**	**0,015**	0,127	NVT
SARS-CoV-2	6 (5,6)	17 (8,5)	10 (11,0)	0,39	0,50	0,19	0,52
Schimmel							
Pneumocystis jirovecii	0	1 (0,5)	0	1,00	1,00	NVT	1,00

CP, controlepersonen; GF, geitenhouders en werknemers; GP, patiënten.
**Een p-waarde < 0,05 geeft aan dat er een statistisch significant verschil gevonden is tussen de groepen die vergeleken zijn. Er zijn verschillende vergelijkingen gemaakt, namelijk: alle drie de groepen samen vergeleken, patiënten in vergelijking met controlepersonen, geitenhouders in vergelijking met patiënten en geitenhouders in vergelijking met controlepersonen.*

Conclusie
Veel van de virussen en bacteriën die zijn getest met behulp van PCR komen vaker voor bij de patiënten ten opzichte van de controlepersonen en geitenhouders. Dit ligt in de lijn der verwachting, omdat de geteste micro-organismen veelvoorkomende verwekkers van luchtwegklachten bij de mens zijn. In deze analyse zijn patiënten met verdenking op een longontsteking vergeleken met controlepersonen en geitenhouders zonder klachten op het moment van monsterafname. Hierdoor valt het te verklaren dat veel van de micro-organismen vaker bij de patiënten voorkomen.

7.2.1.2 Relatie woonafstand tot geitenhouderij

De resultaten van de PCR-testen zijn ook vergeleken in relatie tot de woonafstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij. Hiervoor zijn de patiënten en controlepersonen ingedeeld in twee categorieën op basis van hun woonafstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij: minder dan 2.000 meter (<2.000 meter) en meer dan 2.000 meter (>2.000 meter). Meer afstand-categorieën of kortere afstanden (bijvoorbeeld <500 meter) konden door het beperkte aantal patiënten niet worden onderzocht. Een mogelijke hypothese is dat er specifieke ziekteverwekkers afkomstig zijn vanuit geitenhouderijen die longontsteking kunnen veroorzaken bij omwonenden. De verwachting is dan dat deze ziekteverwekkers vaker voorkomen bij patiënten en controlepersonen die in de buurt van geitenhouderijen wonen (<2.000 meter) in vergelijking met patiënten en controlepersonen die verder weg wonen (>2.000 meter). Aangezien geitenhouders hoog blootgesteld zijn, is de verwachting dat de ziekteverwekker ook in die groep vaak wordt aangetoond. Geen van de geteste micro-organismen werd significant vaker aangetoond bij patiënten die minder dan 2.000 meter van een geitenhouderij wonen in vergelijking met patiënten die meer dan 2.000 meter van een geitenhouderij wonen (Bijlage 3 Tabel B3.1). Ook het vergelijken van de groep controlepersonen op basis van de woonafstand (<2.000 meter vs. >2.000 meter) leverde geen significante verschillen op (Tabel B3.2). De meest relevante bevindingen worden hieronder apart samengevat voor de bacteriën, virussen en de schimmel.

Bacteriën
Geen van de geteste bacteriën volgt duidelijk het patroon van bovenstaande hypothese, waarbij verwacht wordt dat de bacterie zowel onder patiënten als onder controlepersonen vaker wordt aangetoond wanneer zij dichter bij een geitenhouderij wonen; en vaker wordt aangetoond bij geitenhouders ten opzichte van controlepersonen. Een aantal van de bacteriën die met behulp van PCR zijn getest, stonden hoog op de lijst van geiten-gerelateerde micro-organismen uit het literatuuronderzoek van hoofdstuk 4, namelijk: *Moraxella species*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* en *Klebsiella pneumoniae*. De bacterie *Staphylococcus aureus* werd veel gevonden bij geitenhouders (49,5%) en bij patiënten (31,3%) en controlepersonen die dicht bij een geitenhouderij wonen (33,3%). *S. aureus* werd echter niet significant vaker gevonden bij patiënten die dichtbij wonen ten opzichte van patiënten die verder weg wonen (19,5%; p=0,2631; zie Tabel B3.1). Ook het verschil tussen controlepersonen die dichtbij en die op grotere afstand van een geitenhouderij (30,2%) wonen, is niet significant (p=0,647; zie Tabel B3.2). De bacterie *Streptococcus pneumoniae* werd significant vaker aangetoond in patiënten die meer dan 2.000 meter van een geitenhouderij woonden ten opzichte van geitenhouders (p=0,0064), maar was niet significant verschillend tussen patiënten onderling (p=0,0651) en tussen patiënten wonend op minder dan 2.000 meter afstand en geitenhouders (p=0,3492). *Moraxella catarrhalis* werd in beide patiëntengroepen (<2.000 meter en >2.000 meter) significant vaker aangetoond ten opzichte van de groep geitenhouders, maar niet tussen de patiënten onderling. De bacterie *Klebsiella pneumoniae* werd maar heel weinig aangetoond in alle drie de studiegroepen.

Virussen en schimmel
De virussen en schimmel die getest zijn met behulp van PCR laten geen relatie zien met geitenhouderijen. Humaan metapneumovirus A/B (p<0,0001) en humaan parainfluenzavirus type 3 (p=0,032) werden beiden in hogere mate aangetoond bij patiënten woonachtig binnen 2.000 meter van een geitenhouderij ten opzichte van de groep geitenhouders. Beide virussen werden echter helemaal niet aangetoond bij geitenhouders en controlepersonen wonend binnen 2.000 meter van een geitenhouderij. Daardoor is het niet aannemelijk dat deze virussen geiten-gerelateerd zijn. Ook staan deze twee virussen niet op de lijst vanuit het literatuuronderzoek dat in hoofdstuk 4 staat.

Conclusie
De PCR-resultaten van de geteste bacteriën, virussen en schimmel laten geen duidelijke verschillen zien in relatie tot de woonafstand tot een geitenhouderij. De analyses werden belemmerd doordat er veel minder patiënten met een longontsteking in de studie zijn geïncludeerd dan oorspronkelijk beoogd, namelijk 108 geïncludeerde patiënten van de beoogde 600 tot 800 patiënten. De impact van het lagere aantal patiënten op de onderzoeksresultaten wordt verder besproken in hoofdstuk 8 Discussie.

7.2.2 Microbioom

Het bacteriële microbioom van de neus- en keelswabs van alle deelnemers zijn in kaart gebracht. Dit stelde de onderzoekers in staat om de invloed van verschillende factoren op de diversiteit en samenstelling van het microbioom te onderzoeken. En om in meer detail dan met de eerdere PCR-benadering te kijken naar specifieke bacteriën die mogelijke verwekkers zijn van longontsteking. Door deze aanpak kon ook een vergelijking worden gemaakt tussen bacteriën die met de microbioomanalyses werden gevonden en die aangetoond werden met de PCR-testen. En ook met de bacteriën die werden aangetroffen in de luchtmonsters van geitenhouderijen.

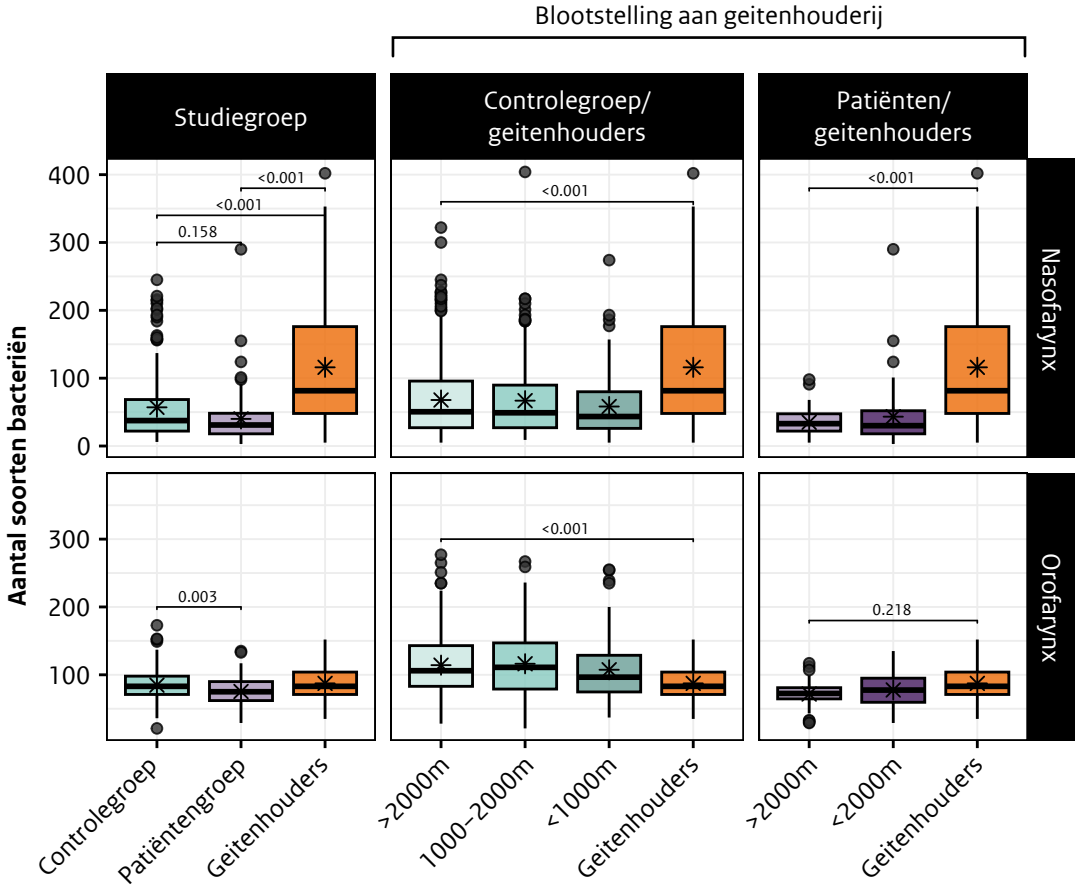
Alle data-analyses waren erop gericht om twee primaire onderzoeksvragen te beantwoorden: 1) wat is de invloed van studiegroep (dat wil zeggen controlepersonen (omwonenden), patiënten met longontsteking en geitenhouders) op het microbioom? En: 2) wat is de impact van blootstelling aan geitenhouderijen op het microbioom van de controlepersonen en patiënten?

De analyses bevestigden dat verschillende andere factoren waarvan bekend is dat ze het luchtwegmicrobioom beïnvloeden, zoals leeftijd en seizoen van monstername,[5] inderdaad van invloed waren op de microbiële diversiteit in de monsters. In de verdere data-analyses werd daarom voor deze factoren gecorrigeerd.

7.2.2.1 Microbiële diversiteit

Eerst werd de diversiteit van bacteriële soorten onderzocht binnen elk monster (de alfa-diversiteit). Deze analyse toonde aan dat de microbiële diversiteit in de neus van geitenhouders aanzienlijk hoger was, vergeleken met zowel controlepersonen als patiënten, terwijl er in de keel geen verschil werd gevonden (Figuur 7.2). De diversiteit van bacteriële soorten tussen controlepersonen en patiënten verschilde significant van elkaar voor zowel de neusswabs als de keelswabs. Daarbij werd voor de patiënten een lagere microbiële diversiteit gevonden. Er werd geen invloed van woonafstand tot geitenhouderijen gevonden op de diversiteit van bacteriën in de neus- en keelswabs voor de controlegroep als ook de patiëntengroep.

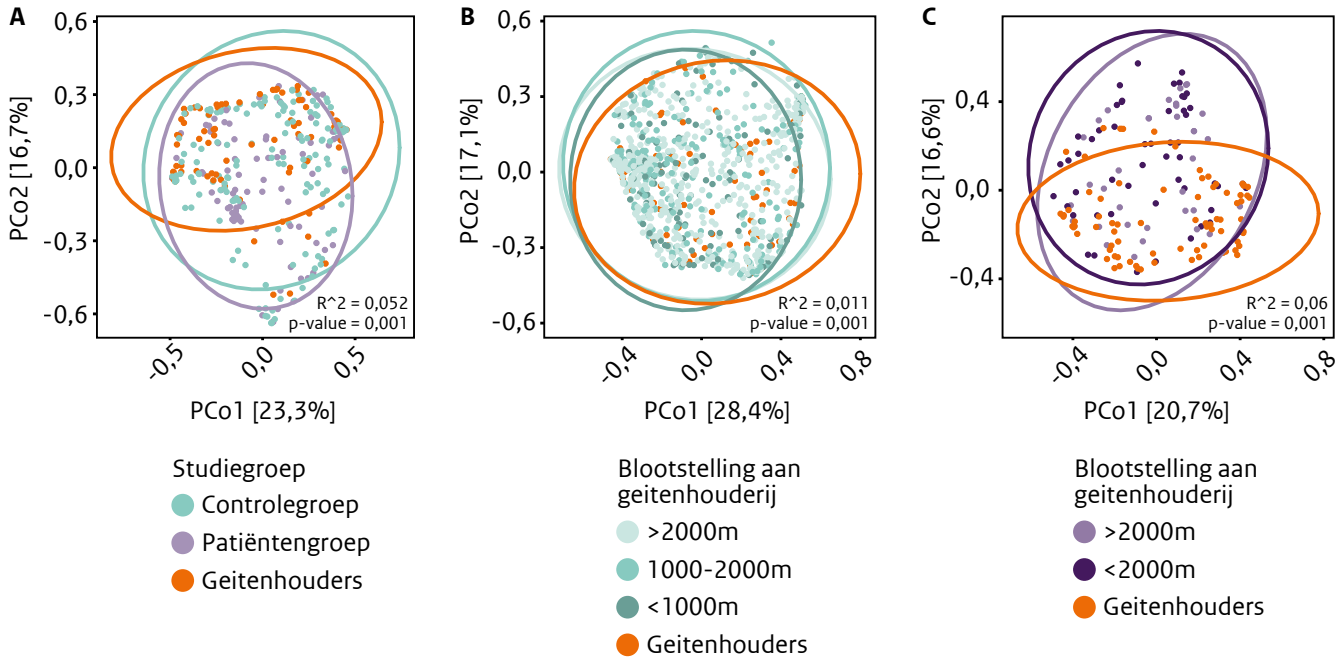
Figuur 7.2 Microbiële diversiteit (aantal waargenomen soorten) in de neus (nasofarynx) en keel (orofarynx) van de drie studiegroepen en van groepen met verschillende blootstelling aan geitenhouderij (woonafstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij)



7.2.2.2 Samenstelling van het microbioom

Vervolgens werd de samenstelling van het microbioom als geheel onderzocht, waarbij duidelijke verschillen werden gevonden in de microbiële samenstelling van neus- en keelswabs. Het type monster (neus of keel) verklaarde 29,8 procent van de variatie in het microbioom (uitgedrukt als R2-waarde; Bijlage 4 Figuur B4.1). Bovendien werden significante verschillen gevonden in de algehele microbioomsamenstelling van de neusswabs tussen patiënten, geitenhouders en controlepersonen (R2 = 0,052, p-waarde = 0,001) (Figuur 7.3a). Onderlinge vergelijkingen toonden aan dat verschillen in microbioomsamenstelling voorkwamen tussen alle drie de studiegroepen, dus patiënten versus controlepersonen versus geitenhouders. Daarnaast werd, zoals verwacht, gevonden dat leeftijd, geslacht, rookgedrag en het seizoen van monstername allemaal de samenstelling van het microbioom beïnvloedden. Er werden vooral opmerkelijke verschillen in microbioomsamenstelling waargenomen bij de vergelijking van beroepsmatig blootgestelde geitenhouders met controlepersonen (Figuur 7.3b) en patiënten (Figuur 7.3c). Er werden geen significante verschillen gevonden tussen deelnemers met verschillende woonafstand tot geitenhouderijen (noch bij controlepersonen, noch bij patiënten). Voor de keelswabs werden vergelijkbare resultaten gevonden (Figuur B4.2).

Figuur 7.3 Principale coördinatenanalyse (PCoA) gebaseerd op Bray-Curtis-dissimilariteiten van (a) alle neus monsters, met verschillende kleuren per studiegroep en (b) blootstelling aan geitenhouderijen voor controlepersonen en geitenhouders en (c) voor patiënten en geitenhouders. De door de eerste twee principale coördinaten verklaarde variantie wordt weergegeven als percentage tussen haakjes.



Conclusie

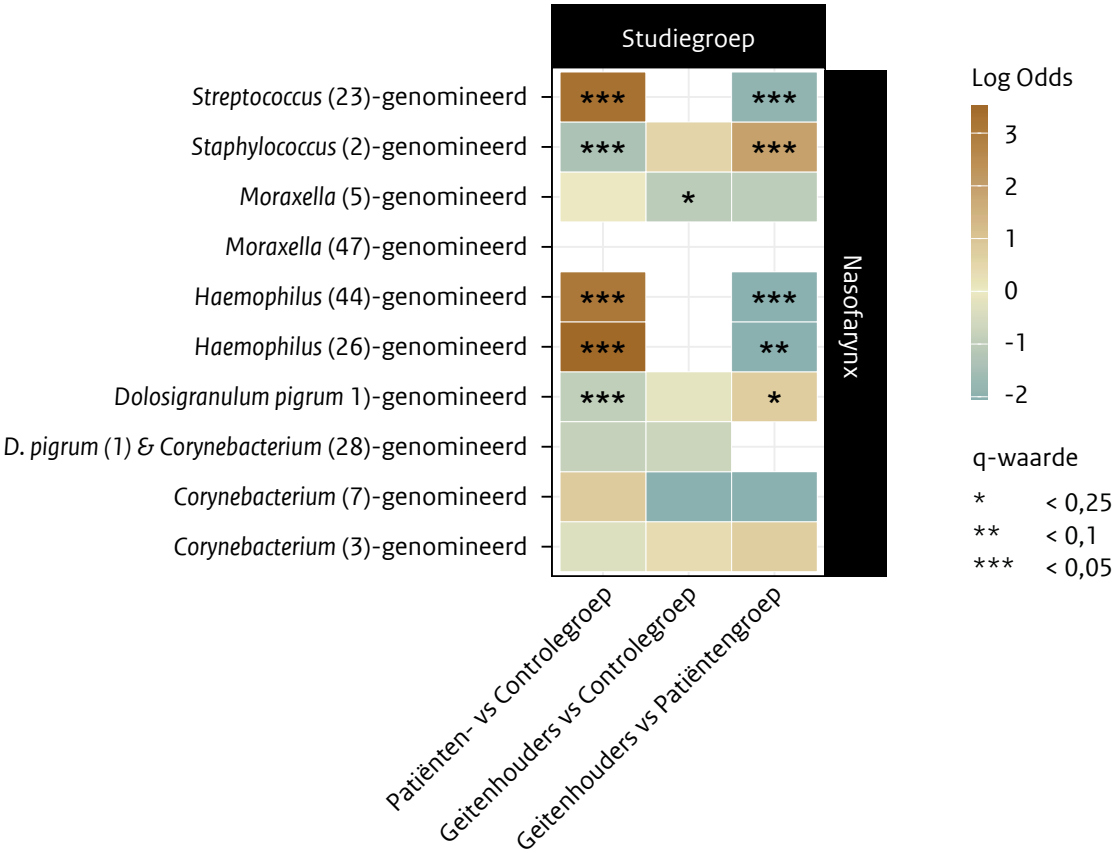
De microbioomsamenstelling verschilde tussen de drie studiegroepen. Voor zowel de controlegroep als de patiëntengroep bleek de microbiële samenstelling en diversiteit niet geassocieerd te zijn met woonafstand tot geitenhouderijen. Dit suggereert dat het onwaarschijnlijk is dat een verschuiving in het luchtwegmicrobioom het verhoogde risico op longontsteking kan verklaren.

Geitenhouders hadden een aanzienlijk groter aantal verschillende soorten bacteriën in hun neus vergeleken met controlepersonen en patiënten met longontsteking. Dit verschil vertaalde zich in een duidelijk ander microbioom bij geitenhouders ten opzichte van de twee andere studiegroepen. Dit is waarschijnlijk te verklaren door hun beroepsmatige activiteiten en uitgebreide blootstelling aan diverse micro-organismen afkomstig van geitenhouderijen (zoals aangetoond in hoofdstuk 7.3).

7.2.2.3 Microbiële profielen

Een clusteringsalgoritme werd gebruikt om deelnemers met vergelijkbare microbiële profielen te identificeren, waarbij elk monster aan één cluster werd toegewezen. In de neus-monsters werden tien verschillende microbiële clusters geïdentificeerd (zie Figuur 7.4). Clusters gedomineerd door *Streptococcus* en *Haemophilus* kwamen vaker voor bij patiënten, terwijl het *Dolosigranulum pigrum*-cluster minder vaak voorkwam in deze studiegroep. Deze bevindingen komen overeen met de verwachtingen, aangezien *Streptococcus*- en *Haemophilus*-soorten bekende veroorzakers van longontsteking zijn, terwijl Dolosigranulum geassocieerd wordt met een gezond luchtwegmicrobioom. De cluster die gedomineerd werd door *Staphylococcus* was vaker aanwezig bij geitenhouders, wat vermoedelijk het resultaat is van hun frequente en intensieve blootstelling aan bacteriën via de werkomgeving. *Staphylococcus aureus* werd in de literatuurstudie geïdentificeerd als een geitenhouderij-gerelateerde ziekteverwekker en stond in de top 3 van bacteriën die longontsteking veroorzaken (zie hoofdstuk 4). In de keel-monsters werden tien verschillende clusters geïdentificeerd (Bijlage 4 Figuur B4.3). Het *Fusobacterium periodonticum*-cluster kwam vaker voor bij patiënten vergeleken met geitenhouders en het door *Streptococcus* gedomineerde cluster werd vaker gevonden bij geitenhouders vergeleken met controles die verder weg woonden van een geitenhouderij. Wat betreft blootstelling aan geitenhouderijen, werd geen patroon gezien van verhoogde mate van voorkomen van bacteriën in neus- of keel-monsters van deelnemers dicht bij geitenhouderijen of van geitenhouders (Figuur B4.3).

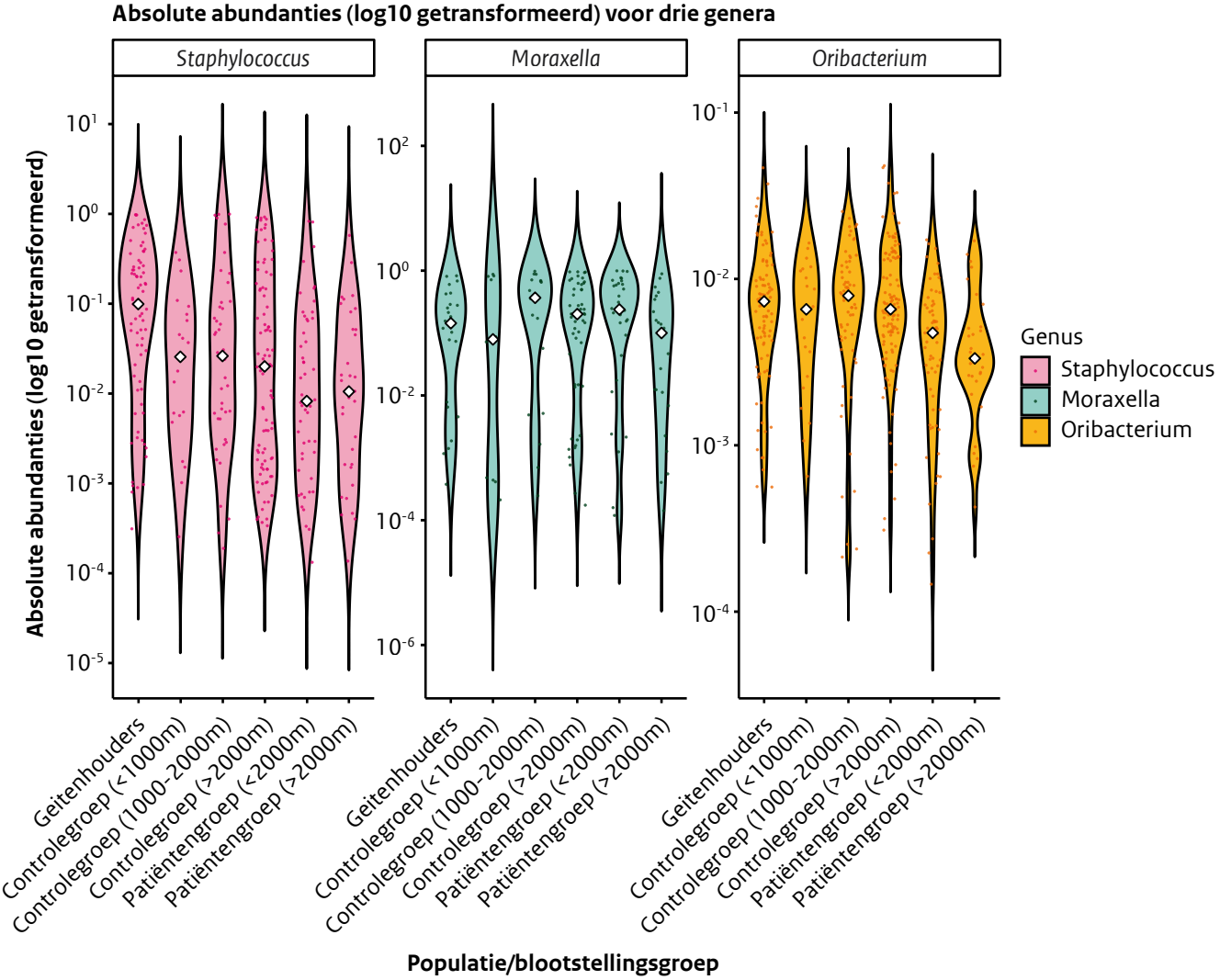
Figuur 7.4 Clusteranalyse van de neus-monsters. De clusters vertegenwoordigen deelnemers met een vergelijkbaar microbieel profiel. De benaming van de clusters (linkerkant) is gebaseerd op de meest dominante bacteriën binnen het cluster. De kleur geeft een hogere (bruin) of lagere (blauw) abundantie van dat cluster aan. Sterretjes vertegenwoordigen significantieniveaus. Wanneer er in beide groepen die vergeleken werden minder dan vier personen zaten, is er geen resultaat berekend.



7.2.2.4 Mate van voorkomen (differentiële abundantie)

Om specifieke bacteriën te identificeren die in abundantie (mate van voorkomen) verschillen tussen studiegroepen of groepen met verschillende blootstelling aan geitenhouderijen, werd een zogenaamde differentiële abundantie-analyse uitgevoerd waarbij voor de genera *Staphylococcus*, *Moraxella* en *Oribacterium* verschillen werden gevonden. In de neus kwam *Staphylococcus* vaker voor bij geitenhouders vergeleken met patiënten, zie Figuur 7.5. Er was echter geen significant verschil in de abundantie van *Staphylococcus* tussen individuen die dichter bij geitenhouderijen wonen en degenen die verder weg wonen (MaAsLin2-analyse). De abundantie van *Moraxella* was opmerkelijk hoger bij controlepersonen die dichtbij geitenhouderijen wonen (1.000 – 2.000 meter; geen statistisch significant verschil voor de kleine groep van mensen die <1.000 meter wonen) vergeleken met controlepersonen die het verst weg wonen (>2.000 meter) (ANCOM-BC2-analyse). Ook bij geitenhouders werd volgens de ANCOM-BC2-analyse een hogere abundantie van *Moraxella* gevonden, vergeleken met controlepersonen die het verst weg wonen (>2.000 meter). Een vergelijkbaar, maar niet-significant patroon werd ook waargenomen bij de longontstekingpatiënten. In de keel van geitenhouders en patiënten met hoge blootstelling aan geitenhouderijen (<2.000 meter) werd een verhoogde abundantie gevonden (met behulp van MaAsLin2-analyse) van *Oribacterium*, vergeleken met patiënten met lage blootstelling (>2.000 meter).

Figuur 7.5 Violin plots van de mate van voorkomen (absolute abundantie, log10 getransformeerd) van de genera Staphylococcus (in de neus), Moraxella (in de neus) en Oribacterium (in de keel), verdeeld over de verschillende studiegroepen en groepen van blootstelling aan geitenhouderijen. Ruiten laten de mediaan per groep zien.



Conclusie
Op clusterniveau (microbiële profielen) werden geen significante verschillen gevonden in relatie tot verschillende blootstelling aan geitenhouderijen. Uit de analyses gericht op het identificeren van specifieke bacteriën die verschillen in mate van voorkomen tussen studiegroepen of groepen met verschillende blootstelling aan geitenhouderijen, werden hogere niveaus van *Moraxella* waargenomen bij controlepersonen die dicht bij geitenhouderijen wonen, in vergelijking met degenen die verder weg wonen. Hogere niveaus van *Oribacterium* werden gevonden bij geitenhouders en bij patiënten met longontsteking die dicht bij geitenhouderijen wonen in vergelijking met controlepersonen die verder weg wonen.

Deze bevindingen wijzen op een mogelijk verband tussen specifieke ziekteverwekkers, mogelijk afkomstig van geitenhouderijen, en de incidentie van longontsteking bij bewoners in de nabijheid. Deze bacteriën worden met speciale aandacht beschouwd in hoofdstuk 7.6.

7.2.2.5 Integratie microbioom en multiplex PCR-resultaten

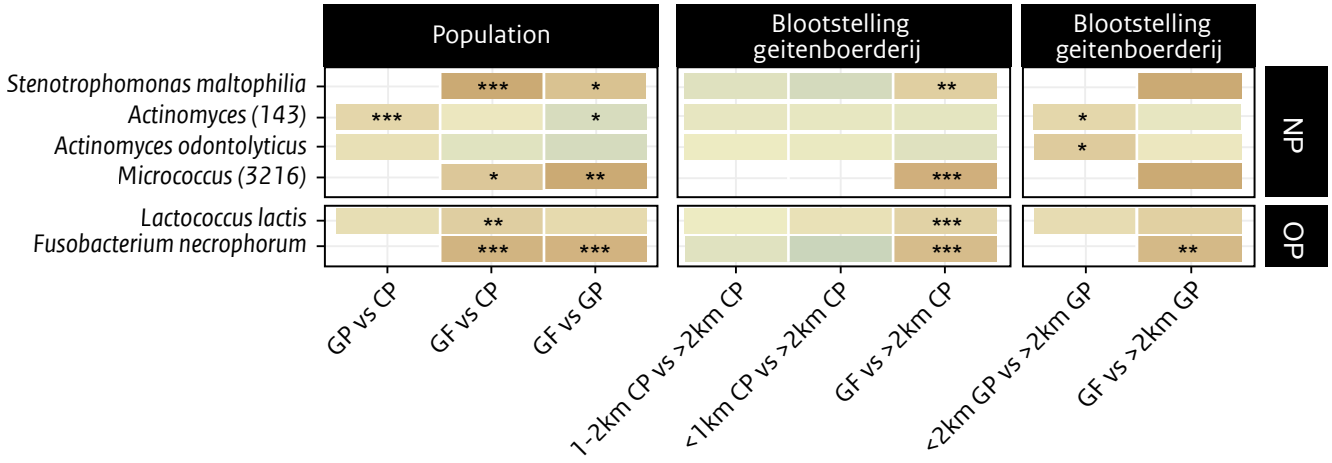
Microbioom versus multiplex PCR-resultaten
Er zijn correlaties aangetoond tussen de aan- of afwezigheid van specifieke bacteriesoorten bepaald op basis van de microbioomresultaten (aan de hand van amplicon sequence variants, afgekort ASV's) en de testresultaten (positief/negatief) van de multiplex PCR-testen, wat de validiteit van beide methodes ondersteunt. Door de multiplex PCR-resultaten naast de microbioomresultaten te leggen konden bacteriën die in de microbioomanalyse werden aangetroffen, verder geclassificeerd worden van genus- naar soortniveau. Opvallend waren de significante correlaties tussen de ASV *Streptococcus* (23) in het microbioom en *S. pneumoniae* in de multiplex PCR-testen (p-waarde < 0,001), evenals tussen *Moraxella* (5) in het microbioom en *M. catarrhalis* in de multiplex PCR-testen (p-waarde < 0,001). De aanwezigheid van Enterobacteriaceae (123) in het microbioom was significant geassocieerd met detectie van *K. pneumoniae* in de multiplex PCR-testen (p-waarde = 0,009).

Conclusie
Door de microbioom- en multiplex PCR-resultaten te vergelijken, kon de identificatie van bacteriën met beide methoden worden geverifieerd. Door gebruik te maken van de multiplex PCR-testresultaten, konden we ASV's die in de microbioomanalyse zijn geïdentificeerd op een meer gedetailleerd taxonomisch niveau classificeren. Deze aanpak biedt verbeterde inzichten in de specifieke bacteriën die mogelijk geassocieerd zijn met longontsteking.

Microbioom (humaan) versus micro-organismen op de shortlist geitenhouderij
In deze analyse is specifiek gekeken naar een selectie van 32 bacteriën die zijn aangetroffen in luchtmonsters van geitenhouderijen waarvan bekend is dat ze mogelijk longontsteking kunnen veroorzaken (shortlist geitenhouderij, zie paragraaf 7.3.3.2). De aanwezigheid van deze bacteriën is onderzocht in de verschillende studiegroepen en groepen met verschillende blootstelling aan geitenhouderijen. Deze 32 bacteriën werden geselecteerd, omdat ze aanwezig waren in de luchtmonsters op ten minste 25 procent van de bedrijven uit de geitenbedrijvenstudie. Omdat veel van de bacteriële ASVs uit de neus- en keelswabs geen species-levelresolutie hadden na exacte matching met de Silva 138.1- database, vergeleken we de aan- of afwezigheid van alle ASVs die behoren tot de genera in de shortlist. Vervolgens werd '*alignment*' toegepast op de bacteriële ASV's, zonder identificatie op soortniveau met de 16S ribosomaal RNA-database van de NCBI Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) om ASV's waar mogelijk verder te classificeren op dit niveau. Van de 32 geselecteerde bacteriën konden we er 15 identificeren in de neus- en keelswabs (5 op genusniveau en 10 op soortniveau). We zagen bacteriële ASVs van het genus *Actinomyces* (in de shortlist) met een hogere aanwezigheid in patiënten die minder dan 2.000 meter van een geitenboerderij woonden, in vergelijking met patiënten die verder dan 2.000 meter woonden (Figuur 7.6). We vonden ook één van deze *Actinomyces* ASVs (niet geclassificeerd op soortniveau) met een hogere aanwezigheid in patiënten vergeleken met controles. Verschillende soorten van de shortlist bleken vaker aanwezig te zijn bij de geitenhouders vergeleken met de controles, waaronder: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus* (op genusniveau), *Lactococcus lactis* en *Fusobacterium necrophorum*.

Conclusie
Stenotrophomonas maltophilia, *Micrococcus* (op genusniveau), *Lactococcus lactis* en *Fusobacterium necrophorum* van de shortlist waren vaker aanwezig bij geitenhouders in vergelijking met controlepersonen. Deze soorten kwamen bij deze analyse echter niet vaker voor bij patiënten vergeleken met controlepersonen, of bij personen die dichter bij geitenhouderijen wonen. *Actinomyces*-soorten werden vaker aangetroffen bij patiënten die in de buurt van geitenhouderijen wonen, dan patiënten die verder weg wonen en ook vaker bij patiënten in vergelijking met controlepersonen.

Figuur 7.6 Aanwezigheids- en afwezigheidsanalyse van bacteriële ASV's in de neus (NP) en keel (OP), uitgevoerd voor bacteriën die zijn aangetroffen in luchtmonsters van geitenhouderijen (shortlist geitenhouderij). Bacteriële ASV's die zijn weergegeven in de heatmap voldoen aan één van de volgende criteria: een significant frequentere aanwezigheid bij patiënten (GP) dan controles (CP); een significant frequentere aanwezigheid bij geitenhouders (GF) dan controles; een frequentere aanwezigheid bij CP of GP die dichter bij een geitenhouderij wonen. De kleurenschaal geeft de sterkte van het effect aan, asterisks geven het significantieniveau aan (gecorrigeerd voor multiple testing), waarbij * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 (Fisher's Exact-test).



7.2.3 Serologie

De resultaten van serologische ELISA's tonen dat het niveau van reactie door het afweersysteem op blootstelling aan de selectie van schimmels hoger was onder geitenhouders dan onder controlepersonen in met name de *Aspergillus*-groep (dat wil zeggen *S. rectivirgula*, *E. amstelodami*, *S. viridis*, *A. restrictus*, *A. intermedius*, *E. rubrum* en *C. neoformans*). Er bleek in deze groep ook sprake te zijn van kruisreactiviteit. De volledige resultaten zijn weergeven in Tabel 7.4. Hierin rapporteren we de mediaan (± SD), die de mate van sensibilisatie uitdrukt. De mate van sensibilisatie is bepaald op basis van de hoeveelheid IgG antilichamen tegen specifieke schimmels.

Tabel 7.4 Resultaten ELISA's op sera van geitenhouders en controlepersonen

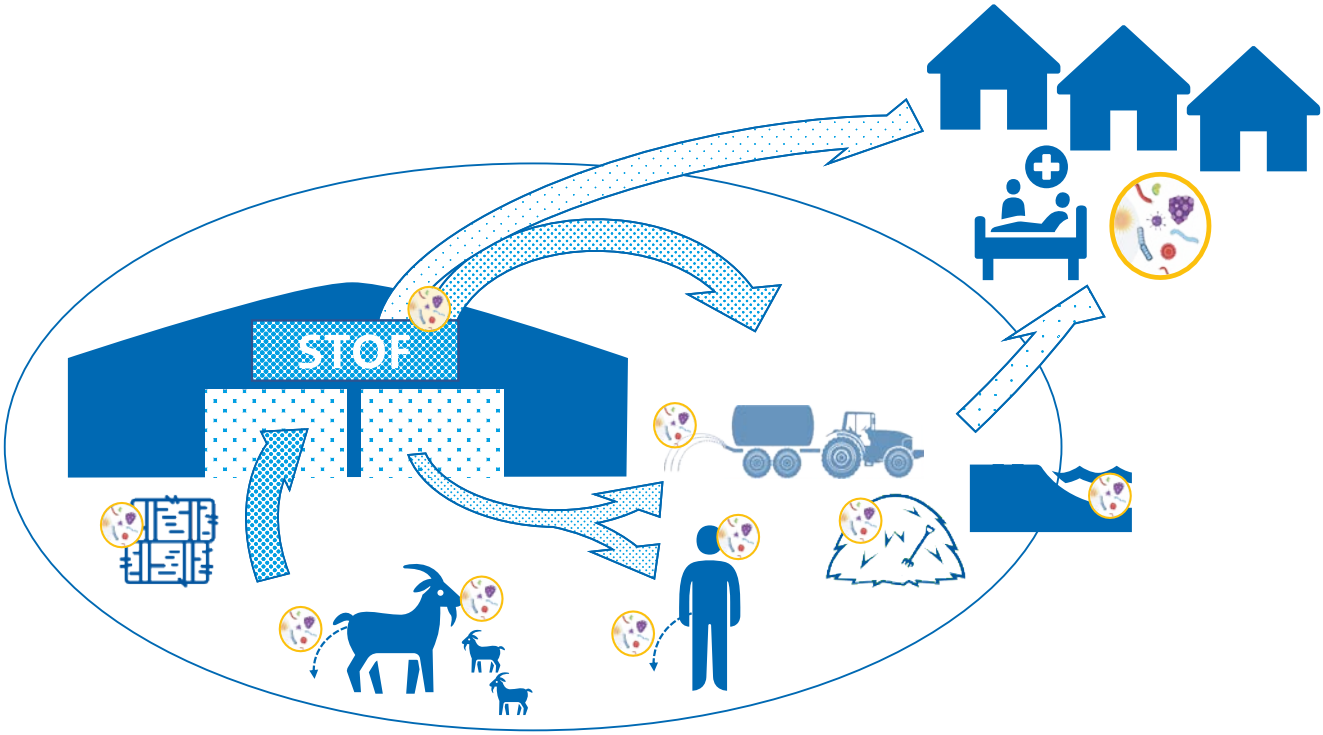
	Mate van sensibilisatie mediaan (±SD)	
Schimmel species	**Geitenhouders en werknemers (N=93)**	**Controlepersonen (N=100)**
Aspergillus intermedius *	0,29 (±0,19)	0,22 (±0,25)
Aspergillus restrictus *	0,14 (±0,13)	0,10 (±0,15)
Cryptococcus neoformans *	0,95 (±0,36)	0,84 (±0,35)
Eurotium amstelodami *	0,29 (±0,21)	0,26 (±0,20)
Eurotium rubrum *	0,31 (±0,20)	0,23 (±0,23)
Saccharomonospora viridis *	0,24 (±0,46)	0,17 (±0,26)
Saccharopolyspora rectivirgula *	0,23 (±0,12)	0,20 (±0,12)
Aspergillus fumigatus	0,18 (±0,14)	0,16 (±0,19)
Aureobasidium pullulans	0,79 (±0,44)	0,69 (±0,37)
Candida albicans	0,50 (±0,35)	0,48 (±0,37)
Lichtheimia corymbifera	0,62 (±0,39)	0,59 (±0,40)
Sporobolomyces roseus	0,25 (±0,17)	0,22 (±0,17)
Thermoactinomyces vulgaris	0,82 (±0,84)	0,76 (±0,82)
Wallemia sebi	0,11 (±0,09)	0,09 (±0,09)

** Significant (p<0,05) hoger in geitenhouders en werknemers dan in controlepersonen op basis van de Mann-Whitney-U-test.*

7.3 Geitenbedrijvenstudie

In de geitenbedrijvenstudie is op zestien geitenbedrijven een grote hoeveelheid monsters genomen voor analyse op het mogelijk voorkomen van ziekteverwekkers die longontsteking kunnen veroorzaken bij omwonenden, zie Figuur 7.7.

Figuur 7.7 Samenvattende infographic van de geitenbedrijvenstudie



7.3.1 Bedrijfsfactoren

Zoals besproken in paragraaf 6.4.2, is bij de selectie (en werving) van de deelnemende bedrijven gestreefd naar representatie van een huidige doorsnede van de Nederlandse melkgeitenhouderij qua bedrijfsgrootte, houderijprincipe (regulier/biologisch) en bedrijfsmanagement. Voor wat betreft het bedrijfsmanagement zijn een veelheid van aspecten uitgevraagd tijdens intakegesprekken met de deelnemende bedrijven. Een overzicht van de variatie aan bedrijfsmanagement binnen de zestien deelnemende bedrijven is als volgt.

- Op één bedrijf na hebben alle deelnemende bedrijven eigen aanfok, dat wil zeggen: zij fokken de eigen vervangende dieren aan. De jaarlijkse vervangingspercentages variëren tussen 20 procent en 36 procent. Daarbij produceren al deze bedrijven vleesbokjes. De meeste van deze bedrijven hebben een aflammerpiek in februari en maart. Op sommige van deze bedrijven loopt deze aflammerperiode door tot juni. Een aantal bedrijven kent twee of drie aflammerperioden verdeeld over het jaar. Het aflammeren vindt plaats in afzonderlijke aflammerstallen of in potten in stallen waar ook de melkgeiten worden gehouden. Hetzelfde geldt voor de opfok van geiten na spenen.
- De bedrijven hebben, met uitzondering van één bedrijf, overwegend Saanen melkgeiten en kruislingen van Saanen melkgeiten.
- De bedrijven passen, met uitzondering van één bedrijf, duurmelken toe. Duurmelken wil zeggen dat een geit langere tijd achter elkaar wordt gemolken, zonder dat zij een lam krijgt.
- Twee bedrijven houden geiten op meerdere locaties. Op een tweetal bedrijven worden op de locatie waar de geiten worden gehouden ook andere diersoorten bedrijfsmatig gehouden.

- Alle bedrijven vaccineren voor Q-koorts, 14 voor Clostridium, 9 voor Paratuberculose en de helft voor Pasteurella.
- Geen enkel bedrijf schaart vee van derden in. De helft van de bedrijven bemest de percelen waarop voer voor de melkgeiten wordt geteeld met mest(producten) van varkens. Enkele bedrijven bemesten deze percelen met rundermest of kalvermest. Zes bedrijven voeren geen mest(producten) van andere diersoorten aan.
- De bedrijven hebben variërend tussen 1 en 7 stallen (per locatie) waarin de geiten zijn gehuisvest. Drie bedrijven hebben uitsluitend natuurlijk geventileerde stallen en drie bedrijven hebben uitsluitend mechanisch geventileerde stallen. De overige bedrijven hebben zowel natuurlijk geventileerde als mechanisch geventileerde stallen.
- Alle melkgeiten in de geitenbedrijvenstudie zijn gehouden in tarwestropotten. Vier bedrijven strooien de pot (van bepaalde diercategorieën) soms in met vlas. Een enkele keer strooit men een andere strosoort of houtkrullen bij. Stroverdeling gebeurt bij de meeste bedrijven ofwel mechanisch via een stroverdeler of stroblazer, ofwel handmatig. Bijstrooien via - al dan niet door de pot bewegende - voerruiven (waar de geiten het stro uittrekken) komt ook voor. Meestal strooit men de potten eenmaal per dag bij. Meermaals per dag bijstrooien komt ook voor.
- Een klein aantal bedrijven huisvest de opfokgeitjes en vleesbokjes tot aan spenen op roosters.
- Op de twee biologische bedrijven weiden de melkgeiten van mei tot (in) oktober.
- De uitmestfrequentie van de potten van de melkgeiten varieert van éénmaal per jaar tot elke vier weken. Op sommige bedrijven is de uitmestfrequentie seizoensafhankelijk (korter interval in de zomer). Sommige bedrijven mesten alle potten in de stal tegelijk (binnen één of twee dagen) uit. Andere bedrijven mesten de potten volgtijdelijk uit. Daarbij wordt het uitmest-moment afgestemd op de hoogte van de mest in de pot. De uitmestfrequentie van de afdelingen en potten van de lammeren en opfokgeiten varieert van elke drie weken tot driemaal per jaar, waarbij men het principe hanteert dat elke nieuwe partij lammeren of opfokgeiten in een schone pot of afdeling komt.
- De opslag van mest verschilt van bedrijf tot bedrijf. Dit is in lijn met de varianten in opslag die in de enquête onder alle geitenhouders uit 2018 werden aangegeven door de respondenten. De varianten in mestopslag onder de zestien deelnemende bedrijven zijn als volgt: onafgedekte opslag op een betonplaat of op zand, (tijdelijk) luchtdoorlatende of luchtdichte opslag met doek of plastic (afgedekt), opslag binnen zonder ventilatie of overkapte opslag. Combinaties van deze opslagmethoden komen ook voor en een aantal bedrijven heeft meerdere mest-/composthopen. Voerresten komen soms wel en soms niet op de geitenmesthoop. De opslagduur van de mest varieert tussen en binnen de bedrijven van 30 dagen tot soms 1 jaar (achterin mestopslag) en is afhankelijk van de uitrijmogelijkheden en de mestbehoefte van de diverse teelten. Twee bedrijven slaan de mest niet op het bedrijf op, maar voeren de mest direct binnen vier dagen na uitmesten af. Wat betreft mestbehandeling komen het meest voor: geen mestbehandeling, en eenmalig omzetten van de mesthoop voor aanwending. Een beperkt aantal bedrijven past andere mestbehandelingen toe.

In de internetenquête onder geitenhouders in 2024 zijn vragen gesteld over bedrijfsmanagement. Hierbij werden bruikbare antwoorden verkregen van 30 respondenten. De variatie aan bedrijfsmanagement die blijkt uit deze antwoorden was zeer vergelijkbaar met die binnen de 16 deelnemende bedrijven; er waren in deze respons geen aanwijzingen voor management afwijkend van dit spectrum. Uiteraard is de respons van 30 een beperkte respons en in principe wordt, naarmate de respons lager is, de kans groter dat hierin relevante managementpraktijk is gemist.

7.3.2 Luchtmetingen stof en endotoxinen in de geitenbedrijven

7.3.2.1 Stalklimaat, ventilatie en andere meetcondities

Er zijn gedurende 29 bedrijfsbezoeken op 16 geitenbedrijven luchtmetingen uitgevoerd in een stal op het geitenbedrijf. Hiervan waren 22 metingen in 15 'hoofdstallen' met lacterende melkgeiten, drie metingen in een aflammerstal en vier metingen in een opfokstal. In Tabel 7.5 staan de condities waaronder de metingen in de hoofdstallen hebben plaatsgevonden.

De buitenluchttemperatuur van gemiddeld 10,7 °C en de relatieve luchtvochtigheid van gemiddeld 83 procent liggen dicht in de buurt van de langjarig gemiddelde waarden van respectievelijk 11,0 °C en 80 procent (KNMI, De Bilt, 2011-2020). Voor het 'dagnummer in jaar' (lopend van 1 t/m 365) is het gemiddelde gelijk aan 264, waaruit blijkt dat de metingen vaker in de tweede helft dan in de eerste helft van het jaar zijn uitgevoerd. De concentratie van koolstofdioxide (CO_2) is gemiddeld hoger in mechanisch geventileerde stallen dan in natuurlijk geventileerde stallen. Onder de plausibele aanname van een vergelijkbare CO_2-productie (vanuit het metabolisme van de dieren en microbiële processen in de stropotten) tussen beide ventilatietypen duidt dit op een groter ventilatiedebiet in natuurlijk geventileerde stallen. Met de CO_2-massabalansmethode[6,7] is een schatting gemaakt van het 24-uursgemiddelde ventilatiedebiet voor elke meting. Invoerparameters voor deze methode zijn het diergewicht (een vaste waarde van 75 kg), de werkelijke

gemiddelde melkproductie per dier (Tabel 7.5), een bijdrage van de stropot aan de CO_2-productie van 50 procent van de CO_2-productie door de geiten (o.b.v. Mosquera et al., 2022)[8], de gemeten concentratie van CO_2 in de stallucht (Tabel 7.5) en de achtergrondconcentratie van CO_2 (gemiddeld 414 ppmv). Het aldus geschatte ventilatiedebiet ligt gemiddeld 2,5 maal hoger voor natuurlijk geventileerde stallen ten opzichte van mechanisch geventileerde stallen. In overeenstemming met dit beeld is er een kleiner temperatuurverschil (binnentemperatuur minus buitentemperatuur) voor natuurlijk geventileerde stallen (+5,3 °C) ten opzichte van mechanisch geventileerde stallen (+10,1 °C). De verklaring hiervoor is dat met het lagere ventilatiedebiet in mechanisch geventileerde stallen de warmteproductie door de geiten minder wordt afgevoerd.

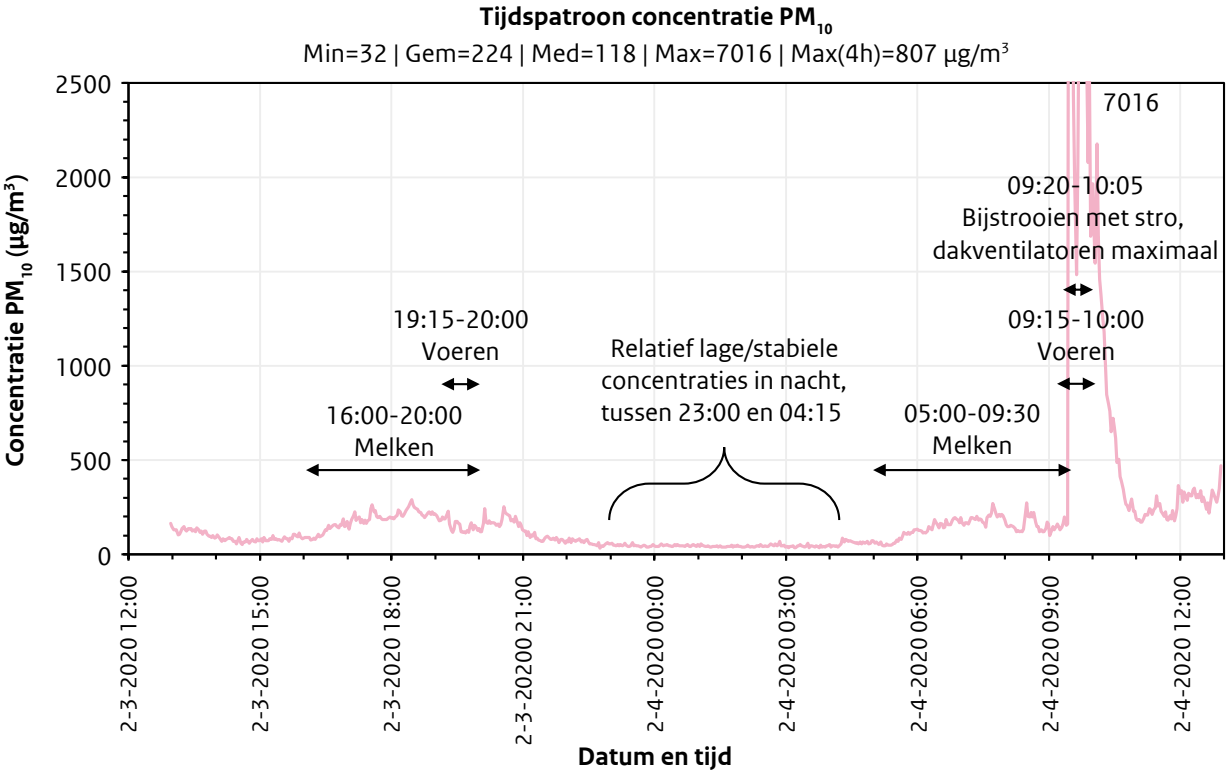
Tabel 7.5 Meetcondities tijdens de 22 metingen in de 15 hoofdstallen met lacterende melkgeiten

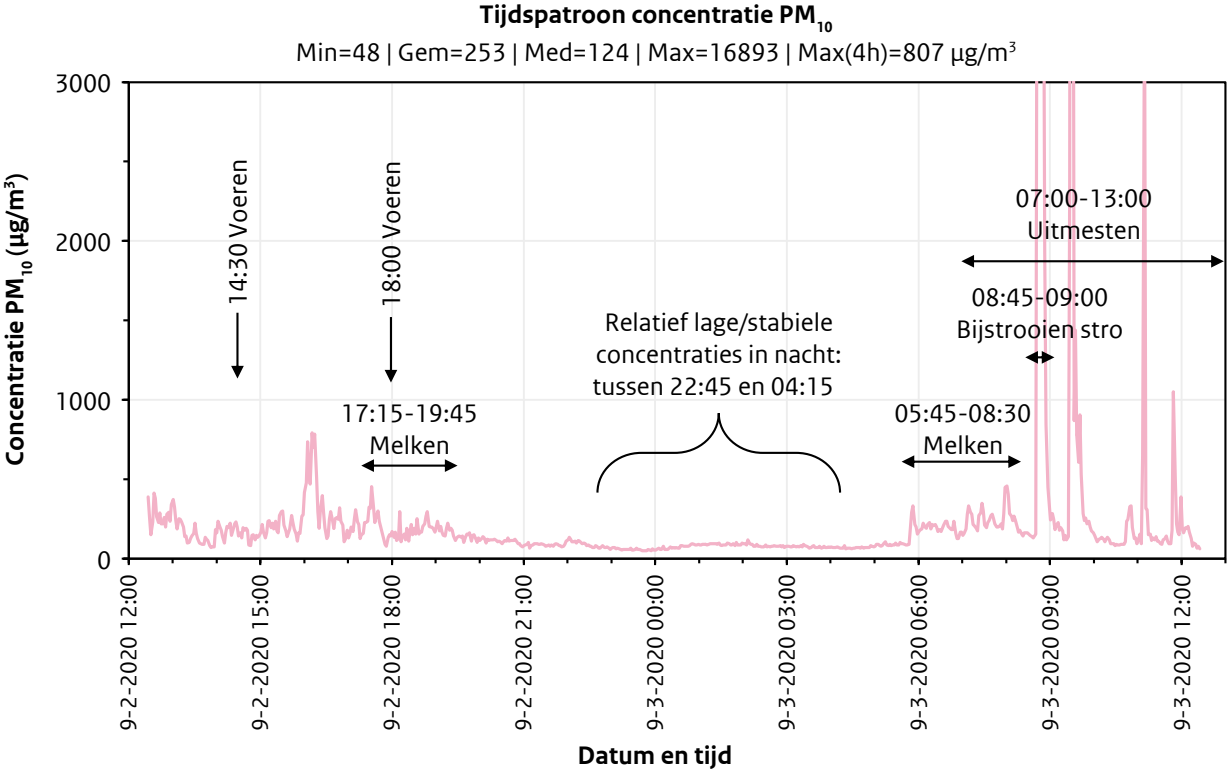
Variabele	Eenheid	Ventilatiemethode								Alle stallen (n=15)			
		Natuurlijk (11 stallen)				Mechanisch (4 stallen)							
		n	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.
Dagnr. in jaar	[#]	15	261	27	352	7	272	34	349	22	264	27	352
Temperatuur buiten	[°C]	15	11,9	4,8	19,1	7	8,0	2,8	15,7	22	10,7	2,8	19,1
Temperatuur stal	[°C]	13	17,2	10,9	22,9	7	18,1	13,5	22,7	20	17,5	10,9	22,9
Rel. luchtvochtigheid buiten	[%]	15	81	44	92	7	88	74	98	22	83	44	98
Rel. luchtvochtigheid stal	[%]	13	67	41	79	7	63	50	71	20	66	41	79
Concentratie CO_2 stal	[ppm v]	15	1040	659	1991	7	1910	1057	3900	22	1317	659	3900
Melkproductie	[kg/dier/dag]	15	3,1	1,3	4,7	7	3,1	2,7	4,0	22	3,1	1,3	4,7
Ventilatiedebiet	[m³/uur/dier]	15	95	25	190	7	38	13	69	22	76	13	190

7.3.2.2 Concentraties en geschatte emissies van fijnstof (PM_{10})

Tijdens elk van de 22 metingen in de 15 hoofdstallen met lacterende melkgeiten is de concentratie van fijnstof in de stallucht continu gemeten met een lichtverstrooiingstechniek met een ingestelde tijdsresolutie van twee minuten. Figuur 7.8 toont twee voorbeelden van deze 22 metingen. In deze continue meetseries valt op dat de fijnstofconcentratie doorgaans relatief laag en stabiel is in de nacht. Deze periode wordt veelal gevolgd door hogere en schommelende concentraties tijdens de ochtendmelking. Waarschijnlijk wordt dit veroorzaakt door de lichaamsactiviteit van de geiten wanneer zij zich verplaatsen naar de melkstal. Overdag blijft de concentratie verhoogd en schommelend ten opzichte van de nachtperiode. Overdag zijn er twee activiteiten die leiden tot zeer hoge (korter durende) pieken of (langer aanhoudende) piekperioden: het (bij)strooien van stro en het uitmesten van potten. Tijdens deze perioden worden fijnstofconcentraties van honderden en duizenden microgrammen per kuub gemeten die tot meerdere uren aanhouden en die vergelijkbaar zijn met de niveaus in legpluimveestallen.[9] Opgemerkt moet worden dat het (bij) strooien van stro op de meeste bedrijven een dagelijks voorkomende activiteit is, terwijl het uitmesten van potten ongeveer elke paar weken tot maanden plaatsvindt.

Figuur 7.8 Twee voorbeelden van continu (elke 2 minuten) gemeten concentraties van fijnstof (PM_{10}) in de stallucht. In deze figuren is de fijnstofconcentratie (Y-as) weergegeven tegen de datum en tijd van de meting (x-as) maar ook zijn de activiteiten weergegeven zoals die door de geitenhouders zijn geregistreerd. De voorbeelden betreffen verschillende geitenbedrijven.





Tabel 7.6 geeft de concentraties en geschatte emissies van fijnstof weer in de hoofdstallen met lacterende melkgeiten en dit zowel voor de totale meetserie van 24 uur als voor de hoogste aaneengesloten vier uren in iedere meetserie. Deze laatste berekeningswijze is meegenomen omdat relatief korte (vier uren) en hoge emissiepieken van stof en de daarin aanwezige kiemen of microbiële stoffen (zoals endotoxinen) gezondheidskundig relevant kunnen zijn, in plaats van – of aanvullend op – een meer stationaire emissie buiten de piekperioden.[10] Uit Tabel 7.6 blijkt dat de stofconcentraties gemiddeld lager zijn in natuurlijk geventileerde stallen ten opzichte van mechanisch geventileerde stallen. Dat is in overeenstemming met het hogere ventilatiedebiet (zie paragraaf 7.3.2.1). Het verschil tussen natuurlijk en mechanisch geventileerde stallen in de emissie van fijnstof (dat wil zeggen het ventilatiedebiet vermenigvuldigd met het verschil in fijnstofconcentratie tussen de stallucht en de achtergrond) is echter klein. De emissie van fijnstof tijdens de hoogste vier uren voor iedere meting is gemiddeld drie keer hoger dan de emissie van fijnstof tijdens de volledige 24 uren voor iedere meting. De overall gemiddelde fijnstofemissie van 119 (range: 9–306) gram per dier per jaar uit de 15 hoofdstallen (Tabel 7.6) ligt ruim tweemaal hoger dan de 54 (range: 11–179) gram per dier per jaar, zoals gerapporteerd door Aarnink et al.[11,12] voor twee natuurlijk geventileerde melkgeitenstallen. Enkele tientallen procenten van dit verschil wordt verklaard doordat in Aarnink et al. ventilatiedebieten zijn geschat uitgaande van een 10 procent bijdrage van de stropot aan de totale CO_2-productie van dieren en pot samen. In de onderhavige studie is uitgegaan van een bijdrage van 50 procent op basis van metingen van de CO_2-emissie uit stropotten van twee melkgeitenbedrijven in Mosquera et al.[8], hetgeen in de onderhavige studie tot hogere ventilatiedebieten en emissies leidt. Door gebruikmaking van deze recente meetgegevens is de potbijdrage op een meer werkelijkheidsgetrouwe manier meegenomen in de emissieberekeningen.

Tabel 7.6 Concentraties en geschatte emissies van fijnstof (PM_{10}) in de 15 hoofdstallen met lacterende melkgeiten

Variabele	Eenheid	Ventilatiemethode								Alle stallen (n=15)			
		Natuurlijk (11 stallen)				Mechanisch (4 stallen)							
		n	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.
Concentratie PM_{10}-stal o.b.v. 24-uur	[µg/m³]	15	151	32	273	7	487	224	954	22	258	32	954
Concentratie PM_{10}-stal o.b.v. hoogste 4-uur	[µg/m³]	15	406	63	1084	7	1351	807	2320	22	707	63	2320
Concentratie PM_{10}-achtergrond	[µg/m³]	15	18	5	52	7	16	6	29	22	17	5	52
Emissie PM_{10} o.b.v. 24-uur	[mg/uur/dier]	15	13	1	35	7	15	6	29	22	14	1	35
	[g/jaar/dier]	15	113	9	306	7	135	54	253	22	119	9	306
Emissie PM_{10} o.b.v. hoogste 4-uur	[mg/uur/dier]	15	40	3	126	7	44	24	73	22	41	3	126
	[g/jaar/dier]	15	346	24	1101	7	383	206	644	22	356	24	1101

Tabel 7.7 Gravimetrisch bepaalde luchtconcentraties van PM_{100} en PM_{10}, de gehalten van endotoxinen in deze stoffracties, en de luchtconcentraties van endotoxinen. EU = Endotoxin Unit.

Variabele	Eenheid	Ventilatiemethode								Alle stallen (n=10)			
		Natuurlijk (7 stallen)				Mechanisch (3 stallen)							
		n	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.	*n*	Gem.	Min.	Max.
Concentratie PM_{100}-stal (gravimetrie)	[µg/m³]	7	536	240	812	4	1154	744	1692	11	761	240	1692
Concentratie PM_{100}-stal (gravimetrie)	[µg/m³]	7	183	106	243	4	410	297	616	11	266	106	616
Ratio PM_{10}/PM_{100} (gravimetrie)	[-]	7	0,37	0,27	0,49	4	0,36	0,28	0,40	11	0,36	0,27	0,49
Endotoxinegehalte in PM_{100}-stalstof	[EU/mg]	4	1385	1087	1699	3	1072	939	1178	7	1251	939	1699
Endotoxinegehalte in PM_{10}-stalstof	[EU/mg]	4	1378	1135	1664	3	1560	1245	1913	7	1456	1135	1913
Endotoxineconcentratie in PM_{100} in stallucht	[EU/m³]	4	697	359	1383	3	1236	875	1861	7	928	359	1861
Endotoxineconcentratie in PM_{10} in stallucht	[EU/m³]	4	227	118	340	3	664	450	780	7	414	118	780

De in dit onderzoek uitgevoerde emissieberekeningen hebben een grotere mate van onzekerheid dan die in recent onderzoek door Mosquera et al.[8] omdat: a) de metingen van fijnstof en CO_2 doorgaans hebben plaatsgevonden op een centrale plaats in de stal in plaats van over meerdere posities in de stal; b) het ventilatiedebiet mede berekend is op basis van een vaste bijdrage van de stropotten aan de totale CO_2-productie in het stalgebouw in plaats van op basis van bedrijfsspecifieke metingen aan de stropotten; en c) voor de CO_2-concentratie in de binnenkomende lucht een vaste waarde is aangenomen en voor de fijnstofconcentratie in de binnenkomende lucht de waarde van het dichtstbijzijnde Landelijk Meetnet Luchtkwaliteit (LML) meetstation voor de meetperiode. Verder is bij een deel van de bedrijven een herhaalde meting uitgevoerd op een dag met een bijzondere situatie, zoals het aflammerseizoen of het uitmesten van potten. De gepresenteerde emissiedata moeten als indicatief worden gezien. Ze zijn geschikt om orde-van-grootte inschattingen te verkrijgen en die te vergelijken met niveaus in andere studies. Ze zijn niet geschikt om te dienen als accuraat verondersteld emissiecijfer voor een bedrijf of diercategorie.

7.3.2.3 Gehalten endotoxinen in stof en concentraties endotoxinen in stallucht

Aanvullend op de continue metingen van de fijnstof-concentratie met een lichtverstrooiingstechniek is tijdens 11 van de 22 metingen in de hoofdstallen inhaleerbaar stof (PM_{100}) en fijnstof (PM_{10}) gravimetrisch bepaald. Met deze methode wordt de stoffractie van interesse verzameld op filters die daarna bij 7 van de 11 metingen geanalyseerd zijn op de hoeveelheid endotoxinen in het stof. De resultaten van deze metingen en bepalingen staan in Tabel 7.7.

De ratio tussen de gravimetrische bepaalde PM_{10}- en PM_{100}-concentratie van gemiddeld 0,36 (range: 0,27–0,49) komt goed overeen met de ratio van 0,32 (range: 0,23–0,51) in de dataset van Aarnink et al.[11,12] en ligt in dezelfde orde van grootte als die voor pluimvee (~0,4) en varkens (~0,3).[9] Het gehalte van endotoxinen in het stof ligt voor zowel PM_{100} als PM_{10} in de range van ca. 1100–1700 EU/mg; dat is hoger dan dat van leghennen en vleeskuikens (circa 200-700 EU/mg), maar lager dan dat van varkens (ca. 1400-4100 EU/mg).[13] De luchtconcentraties van stofgebonden endotoxinen in de geitenstallen liggen aanzienlijk hoger dan de arbeidskundige grenswaarde van 90 EU/m³ voor persoonlijke blootstelling zoals voorgesteld door de Gezondheidsraad.[14] Paragraaf 7.5 gaat in op gemeten persoonlijke blootstelling van geitenhouders en werknemers.

7.3.2.4 Fijnstof- en endotoxinenemissies op bedrijfsniveau vergeleken tussen diercategorieen

In Figuur 7.9 is de berekende fijnstofemissie weergegeven voor een melkgeitenbedrijf (op basis van de gemeten data in het onderhavige onderzoek) met een gemiddelde bedrijfsomvang, alsook die van bedrijven met leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien. Uit de figuur blijkt dat – op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties – de berekende emissie voor een gemiddeld melkgeitenbedrijf 3 procent bedraagt van (de emissie berekend voor) een gemiddeld leghennenbedrijf, 4 procent van een gemiddeld vleeskuikenbedrijf en 33 procent van een gemiddeld vleesvarkensbedrijf. Op basis van de hoogste 4 uren in de fijnstofconcentratie binnen meetdagen bedragen deze percentages respectievelijk 6, 8 en 61 procent.

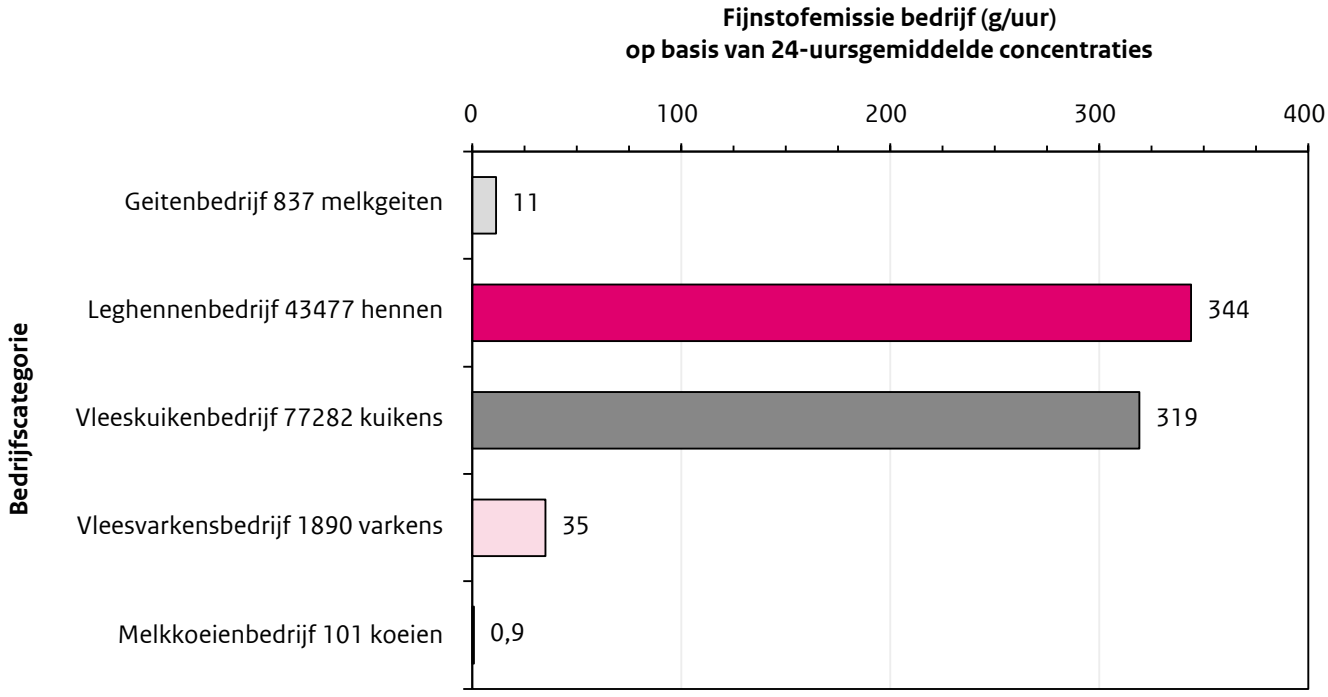
In Figuur 7.10 is de berekende endotoxine-emissie weergegeven voor een melkgeitenbedrijf (op basis van de gemeten data in het onderhavige onderzoek) met een gemiddelde bedrijfsomvang, alsook die van bedrijven met leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien. Uit de figuur blijkt dat – op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties – de endotoxine-emissie voor een gemiddeld melkgeitenbedrijf 22 procent bedraagt van een gemiddeld leghennenbedrijf, 12 procent van een gemiddeld vleeskuikenbedrijf en 20 procent van een gemiddeld vleesvarkensbedrijf. Op basis van de hoogste vier uren in de fijnstofconcentratie binnen meetdagen bedragen deze percentages respectievelijk 39, 27 en 37 procent.

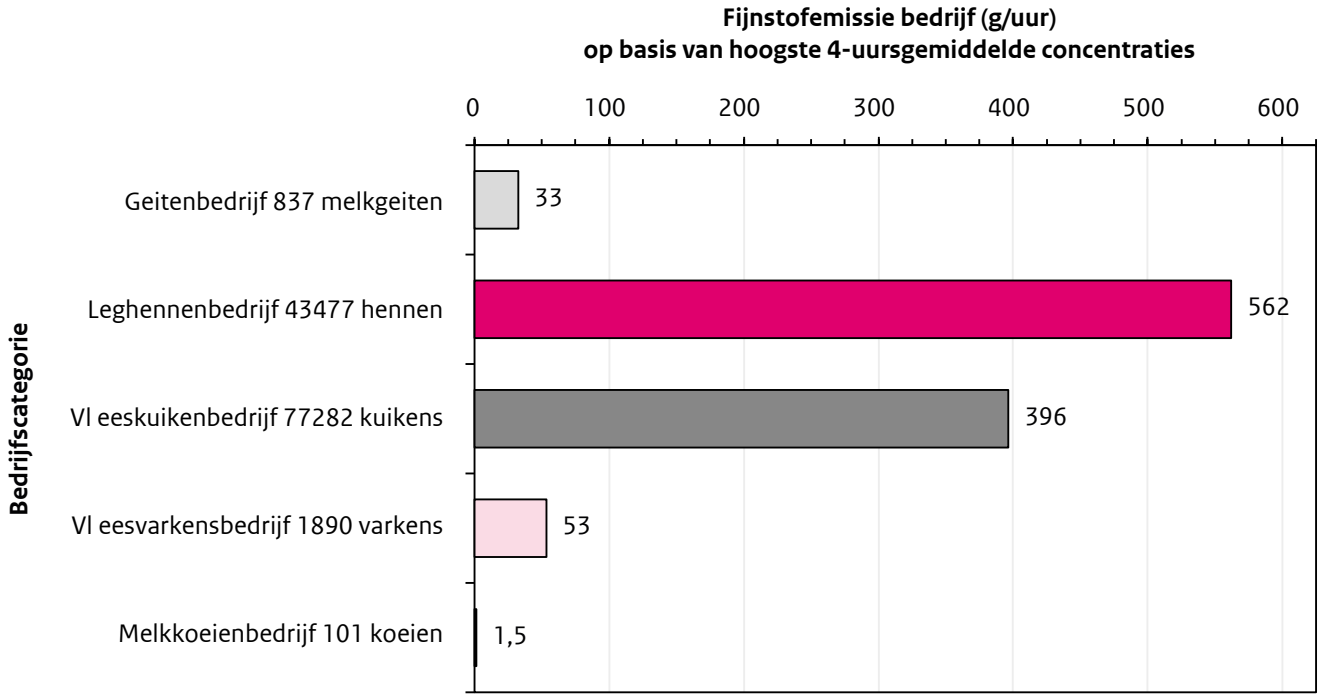
Uit Figuren 7.9 en 7.10 samen blijkt dat de fijnstofemissie van een gemiddeld melkgeitenbedrijf – volgens de verwachting op basis van de studies van Aarnink et al.[11,12] – slechts procenten bedraagt van die van pluimveebedrijven. Het beeld op basis van de piekperioden in de fijnstofemissie binnen dagen is met 6 tot 8 procent iets hoger, maar nog altijd relatief klein. Wordt het endotoxinegehalte in het fijnstof meegenomen in de emissieberekeningen, dan stijgt het beeld tot de orde van grootte van enkele tientallen procenten. Voor vleesvarkens moet opgemerkt worden dat hier is uitgegaan van een stal zonder nageschakelde luchtreinigingstechniek. In de praktijk echter zit een belangrijk deel van de vleesvarkens in stallen met luchtwassers die fijnstof en daarin aanwezige endotoxinen in de uitgaande lucht verminderen.

7.3.2.5 Resultaten luchtmetingen bij het omzetten van de mesthoop

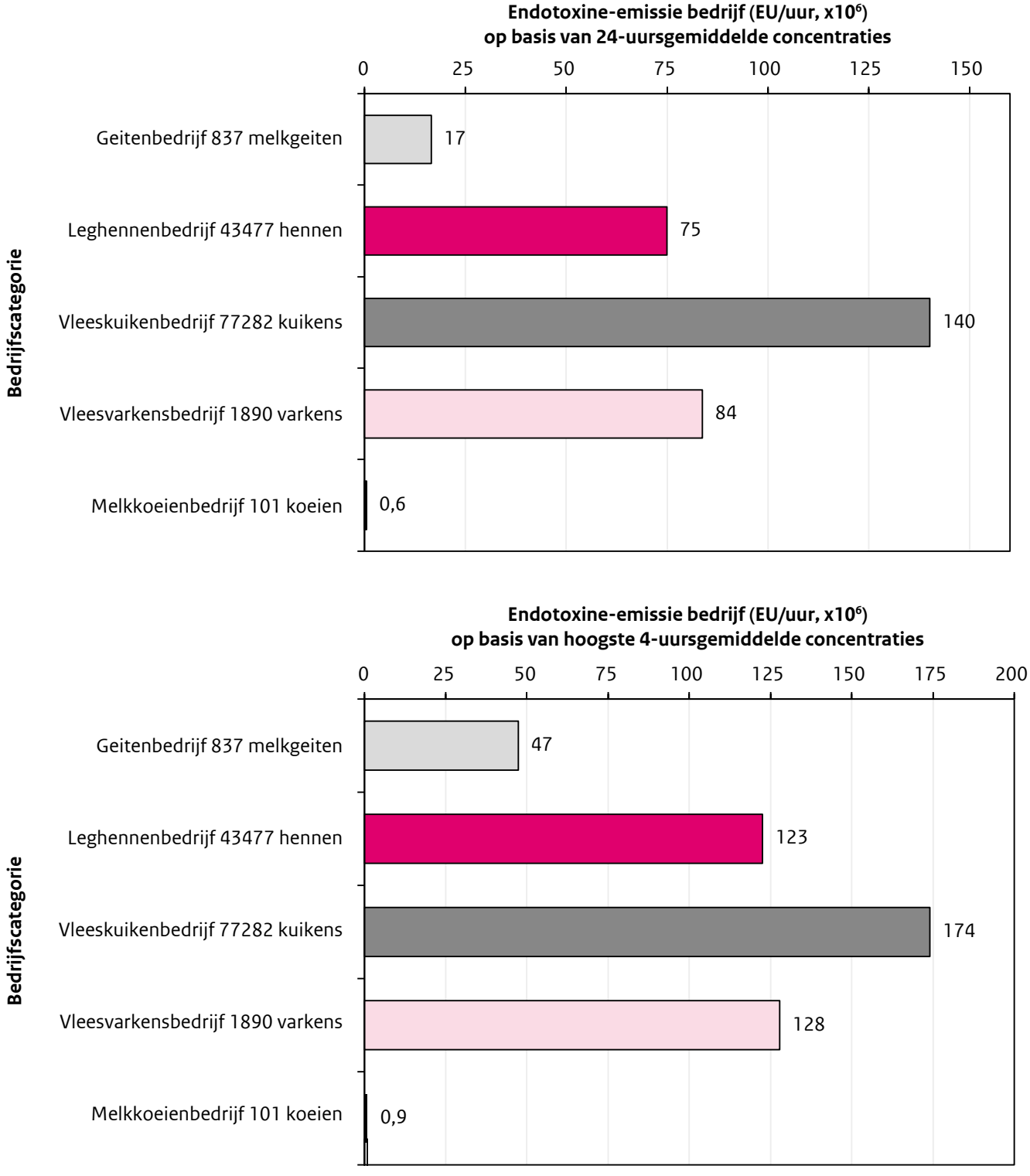
In dit onderzoek is gedurende het omzetten van de stromesthoop op het erf fijnstof bemonsterd in de pluim benedenwinds van het omzetten om de daarin aanwezige micro-organismen vast te stellen. Dit is gedaan op twee melkgeitenbedrijven met elk één gebeurtenis. Hiernaast zijn met continue meetmethoden de luchttemperatuur en relatieve luchtvochtigheid alsook de concentraties van fijnstof en koolstofdioxide (CO_2) bepaald. Deze continue metingen kunnen laten zien of de pluimen die afkomstig zijn van het omzetten van de stromesthoop succesvol zijn ingevangen voor bepaling van daarin aanwezige micro-organismen. Uit de meetgegevens blijkt dat de gemeten variabelen benedenwinds en tijdens het omzetten substantieel stegen ten opzichte van het bovenwindse meetpunt. Hieruit blijkt dat de pluimen afkomstig van het omzetten van de stromesthoop succesvol zijn ingevangen.

Figuur 7.9 Berekende fijnstofemissies op bedrijfsniveau voor een bedrijf met gemiddelde omvang met melkgeiten, leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien; op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties (boven) en op basis van de hoogste 4-uursgemiddelde concentraties binnen meetdagen (onder). De fijnstofdata voor leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeienzijn afkomstig van Winkel et al (2015).[9] De bedrijfsomvang per diercategorie is afkomstig van CBS/WUR.[15]





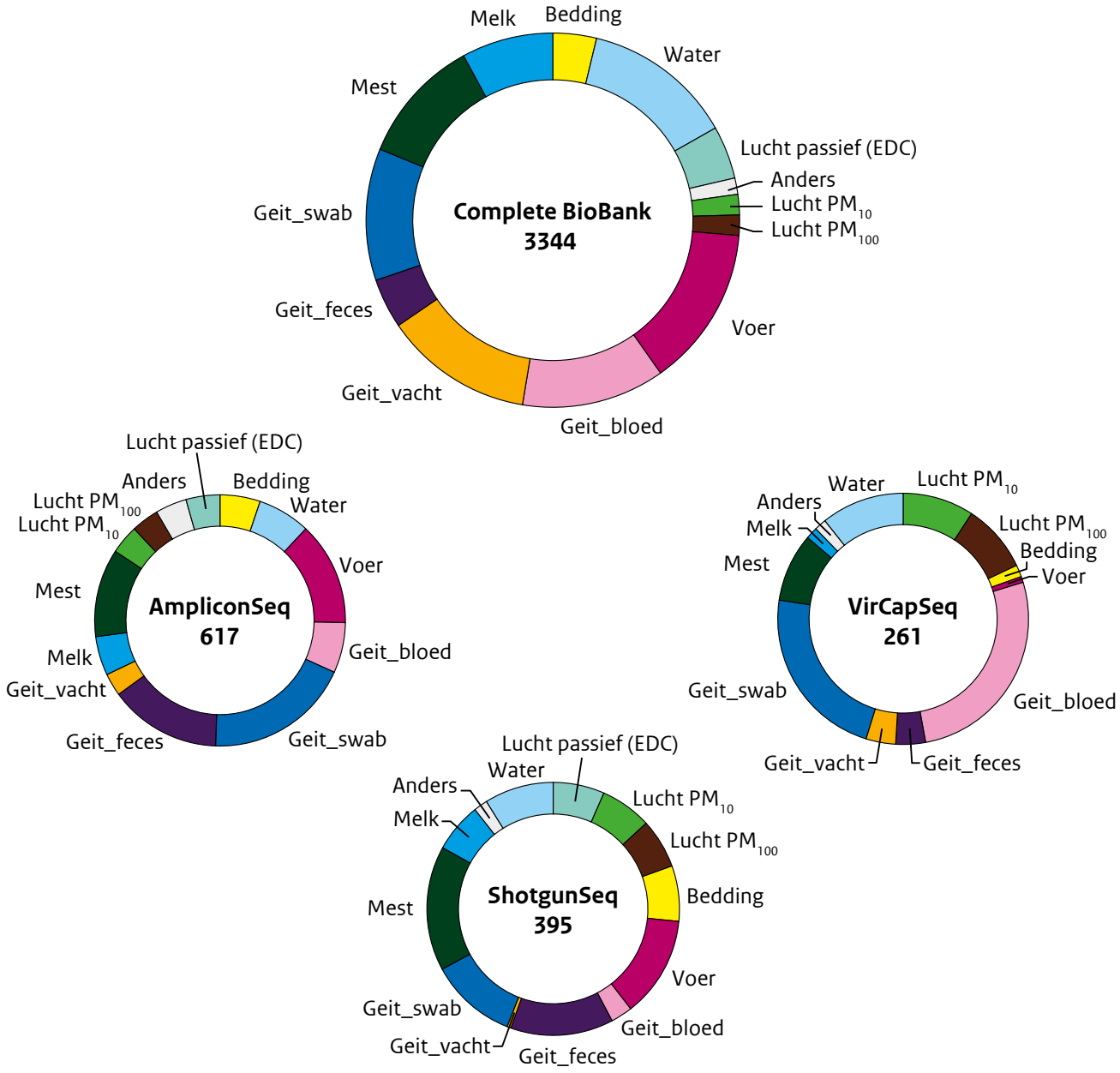
Figuur 7.10 Berekende endotoxine-emissies op bedrijfsniveau voor een bedrijf met gemiddelde omvang met melkgeiten, leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien; op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties (boven) en op basis van de hoogste 4-uursgemiddelde concentraties binnen meetdagen (onder). De fijnstofdata voor leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien zijn afkomstig van Winkel et al. (2015).[9] De endotoxinegehalten in het fijnstof zijn afkomstig van Winkel et al. (2018).[13] De bedrijfsomvang per diercategorie is afkomstig van CBS/WUR (2020).[15]



7.3.3 Microbiële resultaten

Tijdens de 31 bedrijfsbezoeken beschreven in hoofdstuk 6.4 zijn in totaal meer dan drieduizend verschillende monsters genomen (Figuur 7.7 en 7.11). Om het microbioom (bacteriën, schimmels en virussen) in kaart te brengen zijn het overgrote deel van de luchtmonsters en representatieve steekproeven uit de andere typen monsters geanalyseerd met drie verschillende technieken: ruim 600 monsters zijn geanalyseerd met een hoge resolutie 16S rRNA-barcoding deep-sequencing techniek waarmee het microbioom van bacteriën, schimmels en protozoa in kaart wordt gebracht ('AmpliconSeq' in Figuur 7.11); ruim 350 monsters zijn geanalyseerd middels shot-gun metagenomische sequencing ('ShotgunSeq'), dienend ter bevestiging van bacteriën, schimmels en DNA virussen; en ruim 250 monsters zijn geanalyseerd op het viroom (vertebrate DNA en RNA-virussen) ('VirCapSeq') (Figuur 7.11). In de viroomanalyses zijn om technische redenen alleen de actieve luchtmonsters, dat wil zeggen niet de passieve, meegenomen.

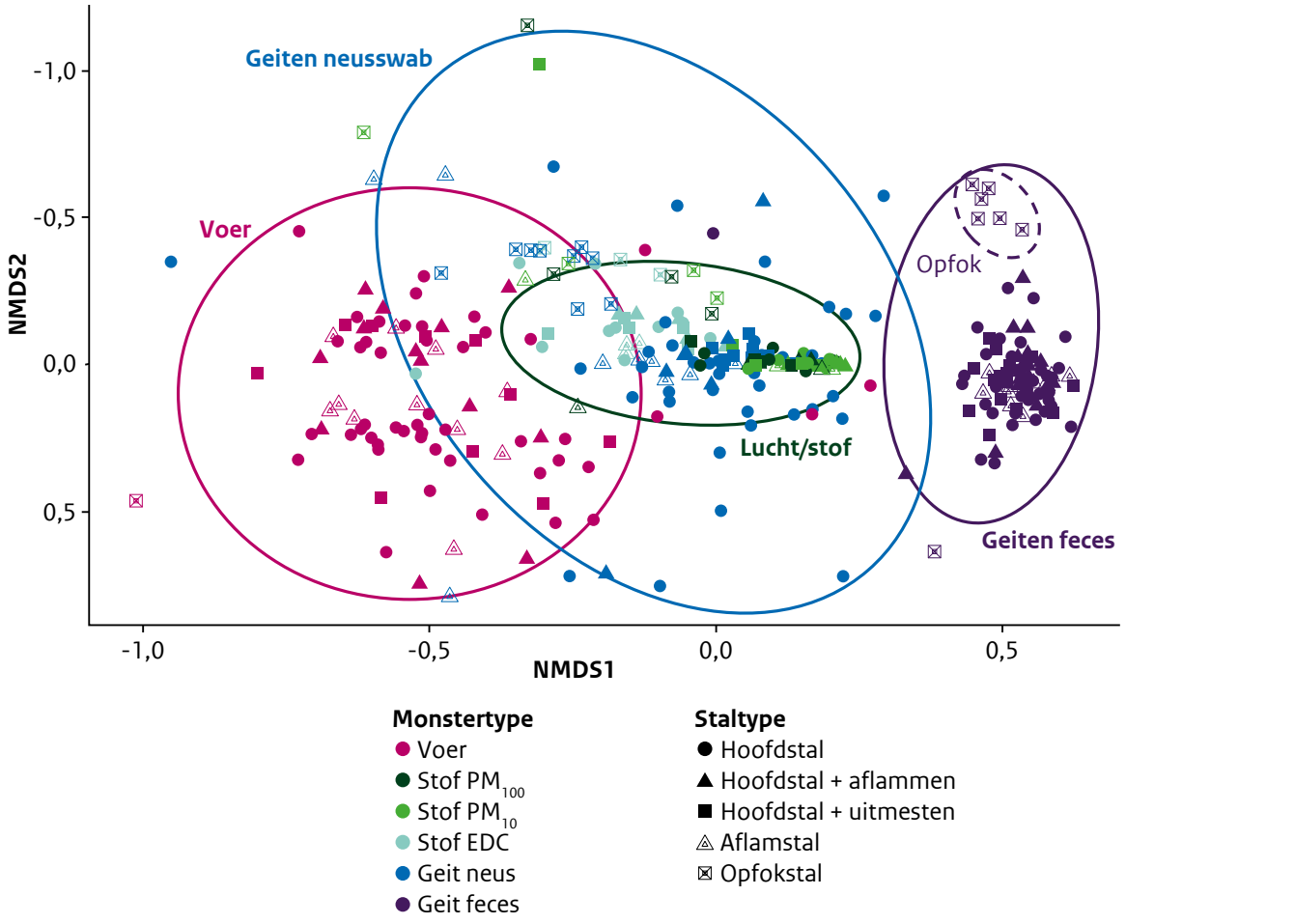
Figuur 7.11 Monsteraantallen en monstertypen, afkomstig van de geitenbedrijvenbezoeken. Boven is het totaal van de biobank van monsters weergegeven, daaronder worden de aantallen monsters uitgesplitst per analysemethode.



7.3.3.1 Kenmerken van 'microbiële landschap'

De resultaten voor de totale microbiële samenstelling van de geteste monsters bevestigen grotendeels de verwachting dat deze samenstelling sterk wordt bepaald door allereerst het monstertype dat is geanalyseerd (bijvoorbeeld lucht, feces (ontlasting), of voer), en daarnaast door factoren zoals de omgeving, het staltype en het management (statistisch significant verband volgens PERMANOVA-test). Clustering patronen in de grafische weergave van de microbiële samenstelling van monsters laten dit zien: clustering op monstertype en daarbinnen op staltype (Figuur 7.12). Dat binnen de fecesmonsters de monsters genomen in opfokstallen sterk clusteren is in overeenstemming met het bekende feit dat het darmmicrobioom van geiten tijdens de groei sterk in ontwikkeling is. Daarnaast is er in Figuur 7.12 zoals verwacht een grote overlap te zien tussen wat wordt gemeten in de geitenneus en in de luchtmonsters. Overall geeft dit vertrouwen in de genomen monsters en gemeten microbioomsamenstelling, dit is van belang als later wordt ingezoomd op het voorkomen van ziekteverwekkers mogelijk gekoppeld aan longontsteking bij de mens. Vergeleken met andere monstertypen lijkt het stal-aerosol (zoals gemeten met de luchtmonsters) het meest voor de hand liggen als drager van een eventueel micro-organisme dat zich kan verplaatsen naar de (woon)omgeving in de buurt van de geitenhouderij. Voor het opstellen van een geprioriteerde lijst van ziekteverwekkers is daarom primair naar de luchtmonsters gekeken. De microbioom-resultaten in de verschillende typen luchtmonsters (namelijk twee actieve (PM_{10} en PM_{100}) en een passieve (EDC-) methode) geven een redelijk uniform beeld met relatief kleine verschillen in samenstelling.

Figuur 7.12 Multidimensionale plot van de onderlinge verschillen in samenstelling van het microbioom per monster (volgens het Bray-Curtis NMDS model) voor een selectie van monstertypen. Ieder symbool in de plot is een individueel monster behorend bij een bepaald monstertype en staltype. Enkele groepen zijn met ovalen aangegeven. Op de horizontale en verticale as staan abstracte coördinaten waarlangs het NMDS-model de verschillen in samenstelling in twee dimensies in beeld brengt. Deze twee coördinaten vormen een benaderende afstandsmaat voor verschillen in genetische samenstelling, met andere woorden hoe dichter twee monsters bij elkaar liggen (in het vlak van deze figuur), hoe meer de genetische samenstelling van deze monsters op elkaar lijkt.



7.3.3.2 Aanwezigheid en prioritering van ziekteverwekkers uit de literatuurstudie in luchtmonsters

Met desktop-analyses is uit de totale genetische samenstelling bepaald in welke mate de ziekteverwekkers uit de lijst van het literatuuronderzoek (zie hoofdstuk 4: ziekteverwekkers die beschreven voorkomen op geitenbedrijven en die ook beschreven zijn als veroorzaker van longontstekingen bij de mens) voorkomen in de monsters. Omdat de methoden van diep-sequensen van bacteriën, schimmels en virussen vrij ruisgevoelig zijn, is hierbij voor een voorzichtige afkapwaarde gekozen: dat tenminste drie bij een micro-organisme behorende sequenties moeten worden geteld, voordat het betreffende monster als positief wordt meegenomen. Op bedrijfsniveau is vervolgens bepaald wat de prevalentie is van micro-organismen op de lijst van het literatuuronderzoek, op basis van de mediaan van het aantal positief scorende luchtmonsters per bedrijf (hierbij zijn eventueel meerdere bezoeken en stallen per bedrijf samengevoegd). Luchtmonsters zijn hier als leidraad genomen, omdat het stal-aerosol (zoals gemeten met de luchtmonsters) het meest voor de hand ligt als drager van een eventueel micro-organisme dat zich kan verplaatsen naar de (woon) omgeving in de buurt van de geitenhouderij.

Schimmels

In de luchtmonsters komen vele verschillende *Aspergillus* sub-soorten frequent voor. Na uitfilteren van de vele sub-soorten waarvan bekend is dat ze niet gekoppeld zijn aan longontsteking, bleven er enkele over waarbij dit wel het geval is zoals de schimmels *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus intermedius*, en *Aspergillus ruber*. Deze schimmels werden met de amplicon methodiek aangetoond in de luchtmonsters op tenminste 25 procent van de bedrijven. Van deze schimmels is bekend dat ze wijdverspreid en frequent voorkomen in het milieu en niet specifiek bij geitenbedrijven.

Conclusie voor schimmels

Eén groep schimmels op genusniveau en daarbinnen drie schimmels op soortniveau werden aangetoond in de luchtmonsters op tenminste 25 procent van de bedrijven. Van deze schimmels is bekend dat ze zeer algemeen voorkomen.

Virussen

Hoewel er in de luchtmonsters vele veterinair interessante virussen zijn gedetecteerd, zijn uit de lijst van ziekteverwekkers uit het literatuuronderzoek enkel de genera *Picobyrnavirussen* en *Mastadenovirussen* aangetoond in de luchtmonsters op tenminste 25 procent van de bedrijven. Het geïdentificeerde *Otarine picobyrnavirus* is een soort binnen het op de lijst staande genus *Picobyrnavirus* maar deze soort is niet uit de literatuur bekend als een verwekker van luchtweginfecties bij de mens. Hoewel de soorten *Mastadenovirus* B en C wel zijn teruggevonden, en volgens de literatuur ook in staat zijn ernstige luchtweginfecties te veroorzaken, zijn de geïdentificeerde schapen/geiten varianten van dit virus zover bekend niet zoönotisch. De humane en herkauwer virusvarianten volgen een eigen (niet kruisende) evolutieroute, zo blijkt uit de literatuur. Een technisch aspect is dat deze viroom-resultaten zijn verkregen met een zogenaamde voorkennis-gebaseerde methode. Hierbij worden monsters verrijkt voor virusvarianten die bekend zijn in, of heel veel lijken op, een panel dat tot een paar jaar geleden alle bekende virussen (uit gewervelde dieren) omvatte. Een alternatieve aanpak zonder verrijking en met mogelijkheid om geheel nieuwe virussen te identificeren is op een subset van de geitenbedrijvenmonsters toegepast door het Erasmus Medisch Centrum (Erasmus MC). Dit gaf vergelijkbare resultaten en het nazoeken van de virussen uit de lijst van ziekteverwekkers leverde (ook hier) geen treffers op.

Conclusie voor virussen

Met de targeted-metagenomics aanpak zijn geen virussen geïdentificeerd, die waarschijnlijk vanuit de geitenhouderij een longontsteking bij omwonenden zouden kunnen veroorzaken.

Bacteriën

Met de gebruikte barcoding deep-sequencing techniek kon in de luchtmonsters met grote zekerheid een grote hoeveelheid aan bacteriële soorten uit de lijst van ziekteverwekkers uit het literatuuronderzoek worden geïdentificeerd. De prevalentie van deze soorten zoals gedetecteerd in deze analyses en bevestigd met de onafhankelijke shot-gun metagenomische sequencing, staat weergegeven in Bijlage 5 Tabel B5.1. Een samenvatting van deze geïdentificeerde bacteriën in de luchtmonsters per geitenbedrijf is weergegeven in Figuur 7.13. Hierbij zijn de bacteriën geprioriteerd op prevalentie (tenminste teruggevonden op 25 procent van de geitenbedrijven) en varianten waarvan bekend is dat ze niet-zoönotisch zijn, zijn eruit gefilterd. Dit is een lange lijst met 5 groepen bacteriën op taxonomisch geslacht (genus-) niveau en 27 op soortniveau. Deze 27 soorten komen in totaal uit 19 genera (dat wil zeggen: er zijn 14 genera aanvullingen op de 5 groepen die op genus-niveau op de lijst staan).

Conclusie voor bacteriën

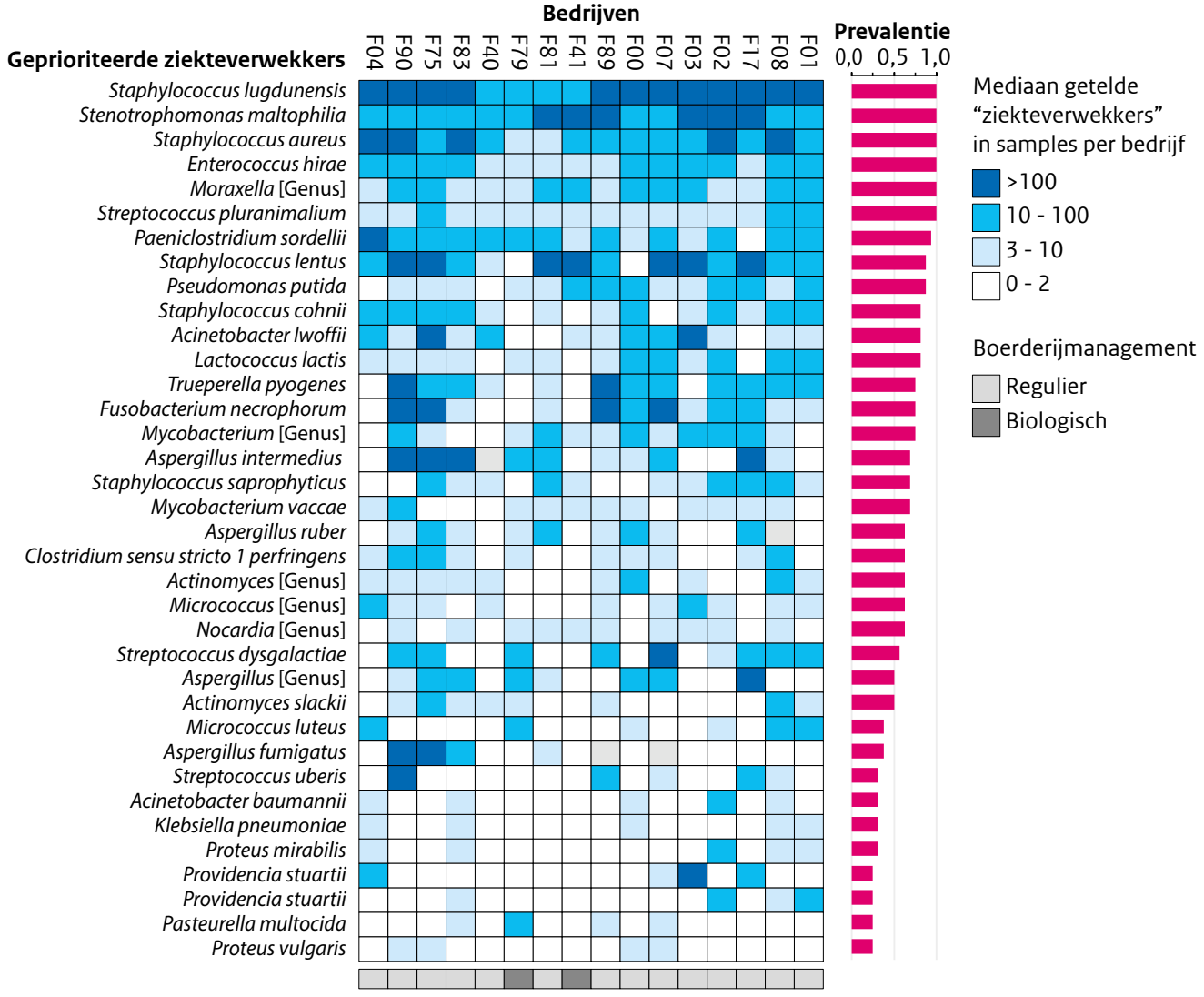
Er zijn 5 groepen bacteriën op taxonomisch geslacht (genus-) niveau en 27 bacteriën op soortniveau die longontsteking bij de mens kunnen veroorzaken en die elk zijn geïdentificeerd in de luchtmonsters op ten minste 25 procent van de geitenbedrijven in deze studie.

Shortlist geitenhouderij

De lijst in Figuur 7.13 noemen we de 'shortlist geitenhouderij'. Een integratie van deze gegevens met de gevonden bacteriële ziekteverwekkers uit de andere deelstudies is geanalyseerd om de lijst verder te prioriteren. In Figuur 7.13 zijn ook de gedetecteerde schimmels (*Aspergillus* sub-soorten) opgenomen, eveneens geprioriteerd op prevalentie (tenminste teruggevonden op 25 procent van de geitenbedrijven) en na uitfiltering van bekend niet-zoönotische varianten.

Een clustering algoritme om te zoeken naar patronen van het voorkomen van ziekteverwekker over de bedrijven, laat een nagenoeg willekeurige variatie zien, waarbij ook geen duidelijk onderscheid kan worden gevonden tussen bijvoorbeeld de twee biologische geitenhouderijen en de overige bedrijven. Er is dus geen aanwijzing dat het voorkomen van één of meerdere van deze ziekteverwekkers geassocieerd is met bedrijfsfactoren. In principe zouden interventiemethoden, gericht op de verminderde uitstoot van microbiële aerosolen vanuit de stal, het blootstellen van de directe omgeving aan ziekteverwekkers kunnen verminderen. Meer specifieke bron-attributie analyses welke sub-bronnen bijdragen aan de microbiologische opmaak van geitenstalstof, kunnen mogelijk helpen om specifiekere interventiemethoden te ontwikkelen, en worden beschreven in paragraaf 7.3.3.3.

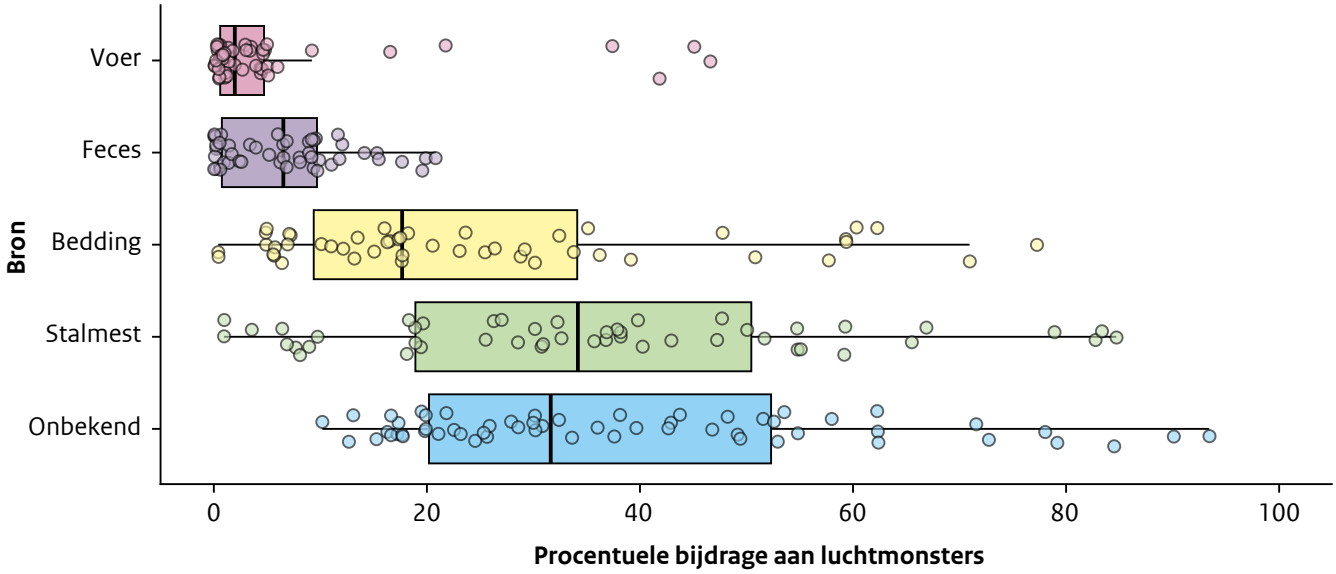
Figuur 7.13 Geprioriteerde bacteriële en schimmel ziekteverwekkers (rijen) in luchtmonsters per bedrijf (kolommen) waarbij per bedrijf en ziekteverwekkers de mediaan van de getelde sequenties afkomstig uit de ziekteverwekkers (~aantallen ziekteverwekkers) semi-kwantitatief wordt weergegeven op een kleurenschaal lopend van negatief/ruis (wit) tot sterk aanwezig (donkerblauw). Het bedrijfstype wordt onderaan in grijstinten per bedrijf getoond. Het staafdiagram rechts toont de bedrijfsprevalentie van de ziekteverwekkers van 0 tot 1 (0-100%).



7.3.3.3 Bronattributie voor geprioriteerde ziekteverwekkers in luchtmonsters

Hoewel algemene interventiemethoden om stofuitstoot naar de omgeving te verminderen voor de hand liggen, is inzicht in welke bronnen nu het meeste bijdragen aan de micro-organismen in het stal-aerosol (met andere woorden, in stof zoals gemeten in de luchtmonsters) belangrijk om een beeld te krijgen van een eventueel relevant specifieker handelingsperspectief. Deze zogenaamde bron-attributie aan stof kan ruwweg op twee manieren worden bepaald; 1) middels alle bacteriën (totale microbioom) in de relevante matrices; of 2) via de geïdentificeerde ziekteverwekkers. Via een microbioom-brede bronattributie analyse (FEAST)[16] op de verschillende matrices per bedrijf naar de stof- en luchtmonsters van datzelfde bedrijf op datzelfde meetmoment, kan een inschatting worden verkregen welke bronnen voor hoeveel procent gemiddeld bijdragen aan wat er wordt gemeten in stof. Een sensitiviteitsanalyse via een zogenaamd monster-uitsluitingsalgoritme helpt een schatting weer te geven van de betrouwbaarheid van deze percentages.

Figuur 7.14 Bronattributieanalyse van verschillende bemeten micro-organisme bronnen aan het gemeten microbioom in actieve luchtmonsters (24 uurs PM_{10} en PM_{100}). De relatieve bijdrage van elke bron aan het totaal lucht (100%) op amplicon-sequence variant- (ASV) niveau, waarbij microbiële bronnen zijn gekoppeld aan de bijbehorende luchtmetingen op hetzelfde moment op dat bedrijf. Kwartielen en mediaan zijn weergegeven.

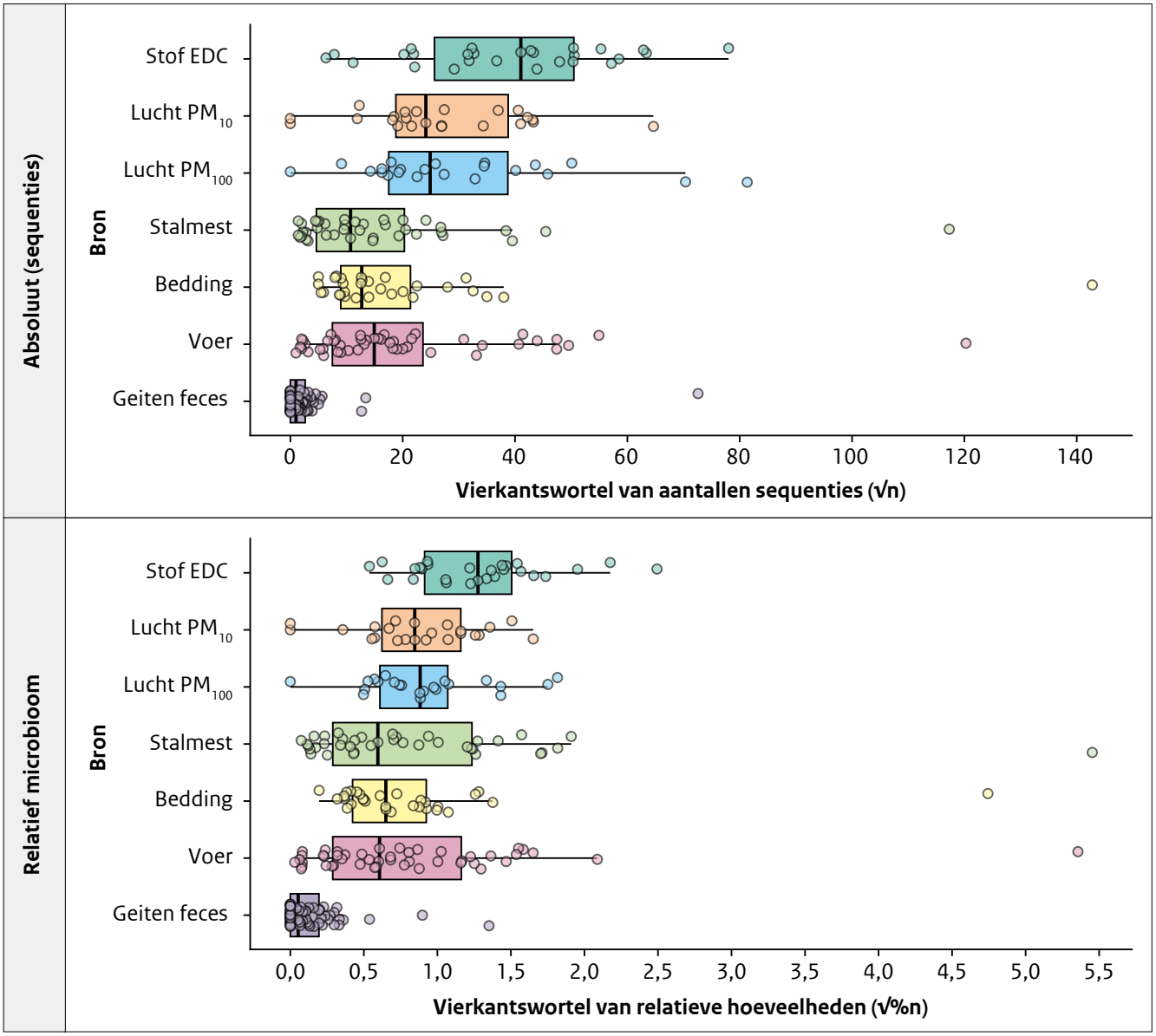


De resultaten van de bronattributie op basis van het totale microbioom staan samengevat in Figuur 7.14. Hierbij zijn van de 16 bedrijven de monsters per bezoek bekeken, waarbij tenminste stallucht, feces, mest, bedding en voer zijn gemeten (N=29), en is bepaald wat de relatieve bijdrage aan het gemeten luchtmicrobioom is. Hieruit blijkt dat de grootste bijdragende componenten de bedding en de stalmest zijn, dat de relatieve bijdrage van feces beperkt lijkt, maar dat er ook nog een relatief grote (nader uit te zoeken) bron moet zijn voor de overige bacteriën. Deze relatief grote bijdrage uit onbekende bron omvat ook de technische meetonnauwkeurigheid, gekoppeld aan de gebruikte methode. Uit aanvullende sensitiviteitsanalyses blijkt dat incomplete meetmomenten (een bedrijfsbezoek waarbij een van de bronnen niet succesvol kon worden bemeten) met name een grote invloed hebben op de 'onbekende' fractie (zie Bijlage 5 Figuur B5.2 waarin voor PM_{10} microbiële luchtmetingen het beperkte effect van includeren van incomplete meetmomenten wordt getoond).

Stalmest blijkt een hoog voorspelde bijdrage te leveren aan de micro-organismen gevonden in lucht. Stalmest kan ook worden gezien als een samenstelling van de andere bronnen: feces, bedding en voer. De attributie van deze bronnen op stalmest staat weergegeven in Bijlage Figuur B5.3A en B5.3B. Daaruit blijkt inderdaad dat de samenstelling van het microbioom in stalmest voor een groot deel kan worden verklaard door de onderliggende bronnen (Figuur B5.3A). Het uitsluiten van stalmest in de bronattributieanalyse (Figuur B5.3B) heeft slechts een bescheiden effect op de uitkomsten voor de bijdragen vanuit de andere bronnen. Over het algemeen verklaren die bronnen dan net iets meer van wat is gemeten in de lucht, maar verder verandert de attributie nauwelijks.

Om de verschillende potentiële bronnen van de ziekteverwekkers op de lijst uit de literatuurstudie beter in kaart te brengen, zijn in Figuur 7.15 de verschillende bronnen en alle monsters daarbinnen weergegeven (als een absolute niet-gecorrigeerde sequentietelling, of als relatieve hoeveelheid van het totale microbioom). Hieruit volgt dat de meer algemene bronnen, namelijk beddingmateriaal, voer, en stalmest (samengestelde bron van feces, bedding en voer), meer van de ziekteverwekker lijken te bevatten dan de geitenfeces-monsters. Een indicatie van de verscheidenheid aan ziekteverwekkers in de verschillende type microbiële monsters staan in de alfadiversiteitsplot, Bijlage 5 Figuur B5.4. In meer detail is het voorkomen van de verschillende ziekteverwekkers per matrixtype samengevat in de 'heatmap' in Bijlage 5 Figuur B5.5.

Figuur 7.15 Distributie van de ziekteverwekkers op de lijst uit de literatuurstudie binnen de verschillende microbiële bronnen. In het bovenste paneel zijn de aantallen uit ziekteverwekkers afkomstige sequenties per monster weergegeven (wortel van het absolute aantal). In het onderste deel zijn dezelfde monsters weergegeven relatief ten opzichte van het complete gemeten microbioom (wortel van de relatieve hoeveelheden).



7.4 Luchtmetingen leefomgeving

Uit de kwaliteitscontroles bleek dat in totaal 264 monsters van voldoende kwaliteit waren om op microbiële samenstelling te analyseren. In Tabel 7.8 zijn weergegeven de in de lucht in de leefomgeving aanwezige micro-organismen vanuit de shortlist geitenhouderij (32 soorten/genera in totaal). In de luchtmonsters van de leefomgeving, zijn de onderstaande 18 micro-organismen aangetoond en deze zijn gerangschikt op het percentage positieve monsters. Dit laat zien dat *Staphylococcus aureus* aanwezig was in bijna alle monsters (99%), maar ook dat diverse andere soorten/genera gedetecteerd werden in de meerderheid van de monsters. De Fisher's exact-toetsen, die gebruikt werden voor de vergelijking van meetlocaties dicht bij een geitenhouderij versus verder weg (zie paragraaf 6.5.5.), konden niet aantonen dat er sprake was van een statistisch significante afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters van de leefomgeving, met afstand tot geitenhouderij.

Vanwege de gebruikte methode, konden drie soorten van de shortlist niet gedetermineerd worden (*Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Acinetobacter haemolyticus*) en kan dus niet gezegd worden of deze wel of niet aanwezig waren. De overige 11 soorten van de shortlist waren niet aanwezig in de luchtmonsters in de leefomgeving.

Tabel 7.8 Overzicht van de in de lucht in de leefomgeving aanwezige micro-organismen vanuit de shortlist

Micro-organisme uit shortlist aanwezig in luchtmonsters leefomgeving (*top 10 hoogst prevalent in luchtmetingen geitenhouderijen)	**Percentage positieve monsters van totaal**
*Staphylococcus aureus**	*99%*
Micrococcus [Genus]*	*90%*
*Paeniclostridium sordellii**	*88%*
Micrococcus luteus	*81%*
*Enterococcus hirae**	*78%*
*Staphylococcus cohnii**	*73%*
*Stenotrophomonas maltophilia**	*72%*
*Staphylococcus lugdunensis**	*72%*
Mycobacterium [Genus]	*64%*
Moraxella [Genus]	*60%*
Clostridium sensu stricto 1 perfringens	*56%*
*Pseudomonas putida**	*36%*
Actinomyces [Genus]	*28%*
Fusobacterium necrophorum	*26%*
Lactococcus lactis	*19%*
*Streptococcus pluranimalium**	*18%*
Acinetobacter baumannii	*15%*
Nocardia [Genus]	*15%*

Interessant om te zien is dat de top 10 hoogst prevalente soorten/genera aangetoond in de luchtmetingen op geitenhouderijen, ook aangetoond zijn in de luchtmetingen in de leefomgeving (*Staphyloccous lentus* uitgezonderd, omdat deze niet gedetermineerd kon worden). Dit is in lijn met de verwachting. Door ventilatie verplaatst lucht die aanwezig is in de geitenhouderijen zich immers naar buiten. Micro-organismen verplaatsen zich mee in deze luchtstromen en kunnen zich zo verspreiden in de omgeving. Het is logisch dat dan de vaakst en meest voorkomende geitenhouderij-gerelateerde micro-organismen de boventoon voeren in wat wordt aangetoond in de leefomgeving. Immers, de concentratie van uitgestoten micro-organismen dunt uit met verspreiding in de buitenlucht. Daardoor neemt de kans met toenemende afstand af dat micro-organismen traceerbaar zijn in de leefomgeving. De traceerbaarheid zal dus vooral een probleem zijn wanneer een micro-organisme minder

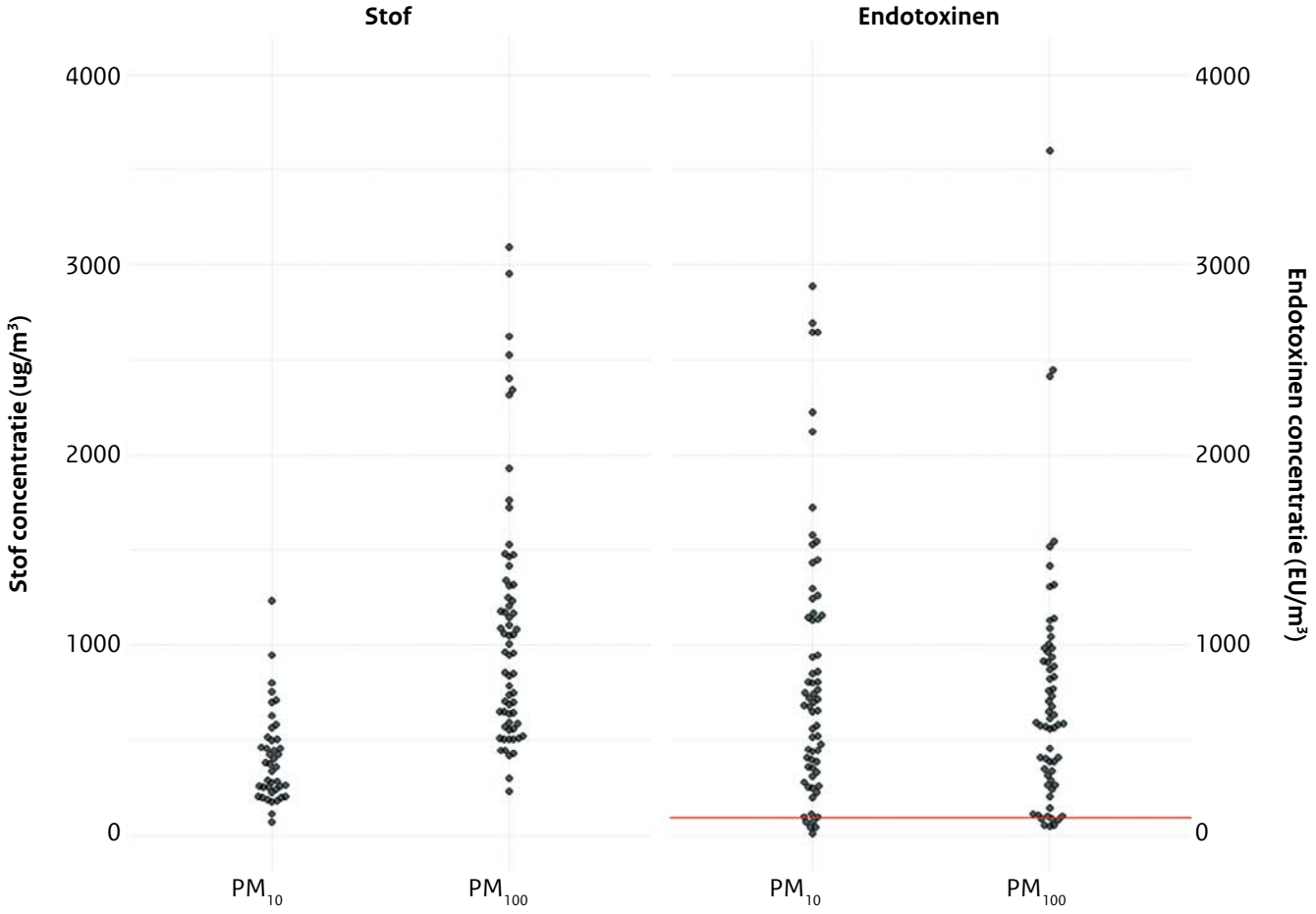
frequent voorkomt op geitenhouderijen en/of in beperkte hoeveelheden. Belangrijk om mee te wegen in de interpretatie van de resultaten is dat de samenstelling van de luchtmonsters die zijn verzameld in de leefomgeving door verschillende bronnen in de omgeving wordt bepaald. Micro-organismen zoals *Staphylococcus aureus* zijn niet specifiek voor geitenhouderijen, maar worden ook in hoge mate gedetecteerd in de lucht op andere veehouderijen en zijn daarom algemeen te verwachten in de lucht in veehouderijdicht gebied. Nog algemener van aard zijn de op genus niveau geïncludeerde micro-organismen op de shortlist. Voor geen van de soorten/genera was een aantoonbare afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving met afstand tot geitenhouderij. Dit wil echter niet zeggen dat deze verbanden er niet in werkelijkheid zullen zijn, maar dat het lastig is aan te tonen gegeven de beperkte steekproefgrootte en het gebrek aan gedetailleerde veehouderij-gerelateerde data.

Conclusie
Meer dan de helft van de soorten/genera van de shortlist geitenhouderij zijn aanwezig in lucht in de leefomgeving en kunnen dus aangemerkt worden als mogelijke blootstellingrisico's voor omwonenden. De toetsen naar het verband tussen aanwezigheid van deze micro-organismen in de lucht op leefniveau met afstand tot geitenhouderij hebben geen additionele inzichten opgeleverd.

7.5 Persoonlijke blootstellings-metingen geitenhouders en werknemers

In totaal zijn er 73 metingen uitgevoerd op 15 bedrijven met 42 verschillende deelnemers. Gemiddeld duurde een meting 6 uur en dit leidde tot de meetwaarden weergegeven in Figuur 7.16. De mediaan stofconcentraties waren voor de PM_{100}- en PM_{10}-fractie respectievelijk 966 ug/m³ (228 – 3093) en 367 ug/m³ (70 – 1233).
De mediaan endotoxine niveaus waren voor de PM_{100}- en PM_{10}-fractie respectievelijk 613 EU/m³ (48 – 3598) en 690 EU/m³ (8 – 2886).

Figuur 7.16 Resultaten persoonlijke blootstellingsmetingen



Conclusie
De gemeten stofconcentraties van de blootstelling van de geitenhouders waren over het algemeen lager dan wat gemeten werd bij pluimveehouders, maar hoger dan wat gemeten werd bij melkveehouders.[17-19] Het gehalte van endotoxinen in het stof lag hoger dan dat van leghennen en vleeskuikens (circa 200-700 EU/mg), maar lager dan dat van varkens (ca. 1400-4100 EU/mg).[20] De door de gezondheidsraad voorgestelde grenswaarde voor de hoeveelheid endotoxine units per kubieke meter lucht is 90 (EU/m^3) in de PM_{100}-stoffractie (rode lijn in Figuur 7.16). Deze waarde werd in de meeste (n=59 (82%)) metingen overschreden.

7.6 Integratie resultaten gezondheids-, luchtmetingen leefomgeving en geitenbedrijvenstudies

7.6.1 Inleiding

De resultaten van de afzonderlijke deelstudies van VGO-III worden hier samengebracht in een geïntegreerde analyse met behulp van de aanpak die is beschreven in paragraaf 6.7. Hierbij gaan de onderzoekers in eerste instantie uit van de hoofdhypothese dat geitenhouderij de bron is van één of meerdere micro-organismen (bacteriën, schimmels of virussen), die zich verspreiden via de lucht naar omwonenden. Om een antwoord te kunnen geven op de vraag welk(e) micro-organisme(n) de oorzaak zou(den) kunnen zijn van het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen, wordt de consistentie en bewijslast van de resultaten uit de verschillende deelstudies systematisch geëvalueerd. Aan het eind van deze paragraaf worden de resultaten besproken, die relevant zijn voor de alternatieve hypothese dat blootstelling aan niet-infectieuze luchtverontreiniging vanuit de geitenhouderij ervoor zorgt dat omwonenden een hoger risico hebben op longontsteking.

7.6.2 Geïntegreerde analyse hoofdhypothese

7.6.2.1 Resultaten-synthese I: van geitenhouderij (shortlist) naar longontsteking

Om de resultaten van de afzonderlijke deelstudies samen te brengen, wordt hier eerst gekeken naar die micro-organismen die voorkomen op de shortlist geitenhouderij, beschreven in paragraaf 7.3.3.2. Dit zijn de micro-organismen die op meerdere van de bemonsterde geitenhouderijen aanwezig zijn en dus niet zeldzaam zijn; die voorkomen in de stallucht van deze geitenhouderijen; en die mogelijk een longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken (op basis van bestaande literatuur). De andere twee deelstudies (luchtmetingen leefomgeving en gezondheid) kunnen voor elk van de micro-organismen op deze shortlist aanvullende bewijslast opleveren, volgens de systematische evaluatie beschreven in paragraaf 6.7.

In de shortlist geitenhouderij zijn vijf groepen bacteriën op genusniveau en 27 op soortniveau opgenomen. Dit laat zien dat er veel verschillende soorten micro-organismen die longontsteking kunnen veroorzaken gevonden zijn in de stallucht van meerdere van de bemonsterde geitenhouderijen. Zoals te zien in Tabel 7.9 wordt voor 15 van de 27 soorten bacteriën en alle vijf groepen bacteriën die op genusniveau op de shortlist staan, ook aanvullende bewijslast gevonden. Bij 12 van 27 bacteriesoorten werd dus géén aanvullende bewijslast gevonden, dat wil zeggen op geen enkele van de aanvullende criteria; waarbij voor drie van deze 12 soorten (grijs gemarkeerd in Tabel 7.9) geldt dat geen aanvullende bewijslast werd verwacht, omdat ze in de geitenbedrijvenstudie alleen konden worden aangetoond met behulp van additionele sequencing analyses die in de microbioomanalyses van de andere deelstudies niet zijn toegevoegd. Bij de 15 soorten bacteriën met aanvullende bewijslast laat Tabel 7.9 zien dat deze aanvullende bewijslast varieert tussen het voldoen aan één extra criterium en het voldoen aan vier extra criteria. Het gaat om vijf soorten die voldoen aan één extra criterium, zeven die voldoen aan twee extra criteria, twee die voldoen aan drie extra criteria, en één die voldoet aan vier extra criteria. De vijf groepen bacteriën die op genusniveau op de shortlist staan, zijn opgenomen onderaan Tabel 7.9. Hieronder vallen twee genera die voldoen aan twee extra criteria, twee die voldoen aan vijf extra criteria, en één genus dat voldoet aan vier extra criteria.

Schimmels
Voor wat betreft schimmels die op de shortlist geitenhouderij staan, tonen de resultaten van serologische ELISA's dat het niveau van reactie door het afweersysteem op blootstelling aan *Aspergillus intermedius* hoger was onder geitenhouders dan onder controlepersonen. Dit geeft dus (beperkte) aanvullende bewijslast analoog aan 'sterkere aanwezigheid bij geitenhouders dan bij controlepersonen', zoals hierboven (en in Tabel 7.9) is beschouwd voor bacteriën.

Tabel 7.9 Resultaten-synthese I, toegespitst op de bacteriën op de shortlist geitenhouderij

	Deelstudie	Deelstudie luchtmetingen leefomgeving		Deelstudie gezondheid					Initiële ranking op basis van aantal keer '+'
	Mogelijk resultaat uit deelstudie voor micro-organismen die voorkomen op de shortlist geitenhouderij	1. Aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving	2. Afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving met afstand tot geitenhouderij	3. Aanwezigheid in controlepersonen	4. Aanwezigheid in patiënten	5. Sterkere aanwezigheid in patiënten dan in controlepersonen	6. Sterkere aanwezigheid bij geitenhouders dan bij controlepersonen	7. Afnemende mate van voorkomen bij patiënten en/of controlepersonen met woonafstand tot geitenhouderij	
	Mate van bewijslast voor resultaten-synthese	Bewijs voor mogelijke verspreiding door de buitenucht. Andere bronnen dan geitenhouderij zijn niet uitgesloten	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. (Enige) relatie met geitenhouderij is aannemelijk	Bewijs dat deze micro-organismen bij omwonenden aangetroffen worden	Bewijs dat deze micro-organismen kandidaat zijn om aan de hoofdhypothese te voldoen	Aanvullend (t.o.v. 4) bewijs dat deze micro-organismen kandidaat zijn om aan de hoofdhypothese te voldoen	Beperkt. Alleen bewijs voor mogelijke overdracht via de lucht in de werkomgeving	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding van geitenhouderij naar omwonenden. (Enige) relatie met geitenhouderij is aannemelijk	
Bacteriën op soort-niveau	*Lactococcus lactis*	**+ (19%)**	-	+	+	-	+	-	4
	Stenotrophomonas maltophilia	**+ (72%)**	-	+	-	-	+	-	3
	Fusobacterium necrophorum	**+ (26%)**	-	+	-	-	+	-	3
	Staphylococcus aureus	**+ (99%)**	-	+	-	-	+	-	3
	Clostridium sensu stricto 1 perfringens	**+ (56%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Staphylococcus lugdunensis	**+ (72%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Pseudomonas putida	**+ (36%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Micrococcus luteus	**+ (81%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Acinetobacter baumannii	**+ (15%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Klebsiella pneumoniae	-	-	+	+	-	-	-	2
	Enterococcus hirae	**+ (78%)**	-	-	-	-	-	-	1
	Streptococcus pluranimalium	**+ (18%)**	-	-	-	-	-	-	1
	Paeniclostridium sordellii	**+ (88%)**	-	-	-	-	-	-	1
	Staphylococcus cohnii	**+ (73%)**	-	-	-	-	-	-	1
	Streptococcus dysgalactiae	-	-	+	-	-	-	-	1
	Staphylococcus lentus	-	-	-	-	-	-	-	0
	Staphylococcus saprophyticus	-	-	-	-	-	-	-	0
	Acinetobacter haemolyticus	-	-	-	-	-	-	-	0
	Acinetobacter lwoffii	-	-	-	-	-	-	-	0
	Trueperella pyogenes	-	-	-	-	-	-	-	0
	Mycobacterium vaccae	-	-	-	-	-	-	-	0
	Actinomyces slackii	-	-	-	-	-	-	-	0
	Streptococcus uberis	-	-	-	-	-	-	-	0
	Proteus mirabilis	-	-	-	-	-	-	-	0
	Providencia stuartii	-	-	-	-	-	-	-	0
	Pasteurella multocida	-	-	-	-	-	-	-	0
	Proteus vulgaris	-	-	-	-	-	-	-	0
Bacteriën op genus-niveau	*Moraxella* [Genus]	**+ (60%)**	-	+	+	+	-	+	5
	Actinomyces [Genus]	**+ (28%)**	-	+	+	+	-	+	5
	Micrococcus [Genus]	**+ (90%)**	-	+	+	-	+	-	4
	Mycobacterium [Genus]	**+ (64%)**	-	+	-	-	-	-	2
	Nocardia [Genus]	**+ (15%)**	-	+	-	-	-	-	2

***+** : wel bewijslast uit de resultaten van de betreffende deelstudie.*
***–** : geen bewijslast uit de resultaten van de betreffende deelstudie.*
Grijs gemarkeerde rijen: voor deze bacteriën werd hier sowieso geen aanvullende bewijslast verwacht omdat ze in de geitenbedrijvenstudie alleen konden worden aangetoond met behulp van additionele sequencing analyses die in de microbioomanalyses van de andere deelstudies niet zijn toegevoegd.

7.6.2.2 Resultaten-synthese II: van longontsteking naar geitenhouderij

Zoals in paragraaf 6.7 (Integratie VGO-III-studies) beschreven, worden in dit onderdeel van de resultaten-synthese de micro-organismen geëvalueerd die niet voorkomen op de shortlist, maar waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert. De bewijssynthese neemt hierbij dus niet de geitenbedrijvenstudie, maar de gezondheidsstudie als uitgangspunt. In deze tweede resultaten-synthese wordt eerst gekeken naar alle micro-organismen (virussen, schimmels of bacteriën) die sterker aanwezig zijn in patiënten dan in controlepersonen en/of sterker aanwezig zijn in geitenhouders dan in controlepersonen; en/of in afnemende mate voorkomen met woonafstand tot geitenhouderij, bij patiënten en/of controlepersonen. Deandere twee deelstudies (luchtmetingen leefomgeving en geitenbedrijven) kunnen aanvullende bewijslast opleveren voor de micro-organismen die aan één of meerdere van deze drie criteria voldoen, volgens de systematische evaluatie beschreven in paragraaf 6.7.

Bacteriën

De bevindingen in Tabel 7.10 laten zien dat er tien bacteriën op soortniveau zijn waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert, maar die niet voorkomen op de shortlist geitenhouderij. Geen van deze tien bacteriesoorten zijn aangetoond in meer dan 10 procent van de luchtmonsters in de leefomgeving. Eén van deze tien soorten, namelijk *Moraxella catarrhalis*, is zelf ook aangetoond in de luchtmonsters op de geitenbedrijven (op één bedrijf). Twee van deze tien soorten vallen onder het genus *Actinomyces* dat op genusniveau op de shortlist geitenhouderij staat. Onder de negen bacteriën waarvoor de gezondheidsstudie op genus-niveau enige mate van bewijslast oplevert, is er één bacterie genus (*Streptococcus*) waarvoor in de geitenbedrijvenstudie bepaalde soorten zijn gevonden (gevonden op minder of op meer dan 25 procent van de bedrijven). Het zou meer sequencing onderzoek vereisen naar zowel de gegevens van de gezondheidsstudie als de geitenbedrijvenstudie om de overlap op soort-niveau uit te werken. Alle negen bacteriën waarvoor de gezondheidsstudie op genus-niveau enige mate van bewijslast oplevert, zijn aangetoond in 10 procent of meer van de luchtmonsters in de leefomgeving.

Virussen

Voor de vier virussen waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert is er geen aanvullende bewijslast uit de andere deelstudies.

Schimmels

Voor wat betreft in de gezondheidsstudie onderzochte schimmels die niet voorkomen op de shortlist geitenhouderij, tonen de resultaten van serologische ELISA's dat het niveau van reactie door het afweersysteem op blootstelling aan *Aspergillus restrictus*, *Cryptococcus neoformans*, *Eurotium amstelodami*, *Eurotium rubrum*, *Saccharomonospora viridis* en *Saccharopolyspora rectivirgula* hoger was onder geitenhouders dan onder controlepersonen. In de geitenbedrijvenstudie werd hiervan alleen *Aspergillus restrictus* aangetoond in de luchtmonsters (op minder dan 25 procent van de bedrijven). De deelstudie Luchtmetingen leefomgeving geeft hier geen aanvullende bewijslast, omdat daarin de monsters niet voor schimmels werden geanalyseerd.

7.6.2.3 Interpretatie van de gevonden resultaten

De resultaten-synthese in Tabel 7.9 en 7.10 geeft een prioritering van kandidaat-micro-organismen op basis van de verzamelde bewijslast voor de hoofdhypothese dat geitenhouderij de bron is van één of meerdere micro-organismen (bacteriën, schimmels of virussen) die longontsteking kunnen veroorzaken bij mensen, en die zich verspreiden via de lucht naar omwonenden. De bewijslast toont in geen enkel geval een oorzakelijk verband aan. Ook niet voor de hoogst geprioriteerde micro-organismen.

7.6.2.4 Alternatieve hypothese

De alternatieve hypothese is dat blootstelling aan niet-infectieuze luchtverontreiniging (hier: stof en/of endotoxine) vanuit de geitenhouderij ervoor kan zorgen dat omwonenden een hoger risico hebben op longontsteking. De resultaten-synthese, op basis van onderzoek gedaan binnen VGO-III en eerder onderzoek daarvoor, is als volgt.

Geitenhouderijen als bron van stof en endotoxine

Uit de resultaten van paragraaf 7.3.2 blijkt dat – op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties – de berekende fijnstofemissie voor een gemiddeld melkgeitenbedrijf 3 procent bedraagt van de berekende fijnstofemissie voor een gemiddeld leghennenbedrijf, 4 procent van die voor een gemiddeld vleeskuikenbedrijf en 33 procent van die voor een gemiddeld vleesvarkens-bedrijf. Op basis van de hoogste vier uren in de fijnstof-concentratie binnen meetdagen bedragen deze percentages respectievelijk 6, 8 en 61.

Ook blijkt dat – op basis van 24-uursgemiddelde fijnstofconcentraties – de endotoxine-emissie voor een gemiddeld melkgeitenbedrijf 22 procent bedraagt van die voor een gemiddeld leghennenbedrijf, 12 procent van die voor een gemiddeld vleeskuikenbedrijf en 20 procent van die voor een gemiddeld vleesvarkensbedrijf. Op basis van de hoogste vier uren in de fijnstofconcentratie binnen meetdagen bedragen deze percentages respectievelijk 39, 27 en 37 procent.

Blootstelling via de buitenlucht in de leefomgeving
Eerder is in VGO-gebied, in de periode maart tot en met september 2011, een meetprogramma uitgevoerd waarbij endotoxineconcentraties in de lucht in de leefomgeving zijn bepaald. Daarvoor waren acht locaties geselecteerd die allen in de nabijheid van geitenhouderijen gelegen waren, en gezien de landelijke ligging vanzelfsprekend ook in de nabijheid van andere type veehouderijen (vooral rundvee, varkens en ook pluimvee). In VGO-I is een grootschaliger meetprogramma uitgevoerd op 61 meetlocaties in 2014-2015, waarbij ook endotoxineconcentraties in de lucht in de leefomgeving zijn bepaald. De locaties die in veehouderijdichtgebied waren gelegen en daarbij vooral omgeven werden door rundvee, varkens en ook pluimvee (dus niet of in beperkte mate nabij geitenhouderijen) lieten vergelijkbare endotoxineconcentraties zien als eerder gemeten in 2011. Dit geeft aan dat er geen duidelijke hogere endotoxineconcentraties worden gevonden in de lucht in de omgeving rondom geitenhouderijen in vergelijking tot andere type veehouderijen. Dit komt overeen met wat verwacht kan worden vanuit emissie-gegevens van geitenhouderijen: geitenhouderijen emitteren endotoxinen net als andere typen veehouderijen, maar zijn geen grotere/belangrijkere bron dan bijvoorbeeld pluimveebedrijven.

Bevindingen vanuit studies bij de mens
Het verhoogde risico op longontsteking in de nabijheid van geitenhouderijen wordt consistent gevonden over de jaren heen en voor verschillende regio's. Dit verband is gecorrigeerd voor de aanwezigheid van andere veehouderijtypen. Dit wijst erop dat de onderliggende oorzaak voor dit verhoogde risico op longontsteking uniek is voor de geitenhouderij. Met andere woorden, een agens dat alleen/vooral/in bijzonder hoge mate in geitenhouderijen voorkomt. Dit maakt endotoxinen minder waarschijnlijk als verklaring, omdat dit algemene microbiologische toxinen zijn die op alle veehouderijen voorkomen, ongeacht de diersoort. Ondanks potentiële verschillen tussen diersectoren in de diversiteit qua bacteriële oorsprong van de endotoxines kunnen de gerapporteerde endotoxineconcentraties over alle diersectoren heen vergeleken worden. Dit is omdat de endotoxineconcentraties zijn bepaald met een gevalideerde biologische assay dat het daadwerkelijke (gestandaardiseerde) toxische potentieel van de endotoxinen meet.

Tabel 7.10 Resultaten-synthese II: systematische evaluatie van micro-organismen die niet voorkomen op de shortlist geitenhouderij, maar waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert

	Deelstudie	**Deelstudie gezondheid**			**Deelstudie luchtmetingen leefomgeving**		**Deelstudie geiten-bedrijven**
	Mogelijk resultaat voor micro-organismen die niet voorkomen op shortlist geitenhouderij, maar waarvoor de gezondheidsstudie enige mate van bewijslast oplevert	Vaker in patienten dan in controles	Vaker in geitenhouders dan in controles	Vaker in patienten en/of controles woonachtig dichtbij geitenbedrijven (<2000m) dan verder weg (>2000m)	1. Aanwezigheid in (minimaal 10% van) de luchtmonsters leefomgeving	2. Afnemende aanwezigheid in de luchtmonsters leefomgeving met afstand tot geitenhouderij	3. Aanwezigheid in de luchtmonsters op geitenbedrijven
	Mate van bewijslast voor resultaten-synthese	Aanvullend bewijs dat deze micro-organismen kandidaat zijn om aan de hoofdhypothese te voldoen	Beperkt. Alleen bewijs voor mogelijke overdracht via de lucht in de werkomgeving	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding van geitenhouderij naar omwonenden. (Enige) relatie met geitenhouderij is aannemelijk	Bewijs voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. Andere bronnen dan geitenhouderij zijn niet uitgesloten	Aanwijzing voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. (Enige) relatie met geitenhouderij is aannemelijk	Bewijs voor mogelijke verspreiding door de buitenlucht. Andere bronnen dan geitenhouderij zijn niet uitgesloten
Bacteriën op soort-niveau	*Rothia mucilaginosa*	+	-	-	-	-	-
	Actinomyces graevenitzii	+	-	-	-	-	**G**
	Moraxella catarrhalis	-	-	**+ (patienten)**	-	-	**+**
	Streptococcus pneumoniae	+	+	-	-	-	**G**
	Lawsonella clevelandensis	+	-	**+ (controles)**	-	-	-
	Anaerococcus octavius	-	-	**+ (controles)**	-	-	-
	Haemophilus aegyptius	+	-	-	-	-	-
	Haemophilus influenzae	+	-	-	-	-	-
	Actinomyces odontolyticus	-	-	**+ (patienten)**	-	-	**G**
	Staphylococcus equorum	-	+	-	-	-	**G**
Bacteriën op genus-niveau	*Gemella* [Genus]	+	-	-	**+ (18%)**	-	-
	Alloprevotella [Genus]	+	-	-	**+ (96%)**	-	-
	Sphingomonas [Genus]	-	-	**+ (patienten)**	**+ (100%)**	-	-
	Streptococcus [Genus]	+	-	-	**+ (100%)**	-	**G**
	Haemophilus [Genus]	+	-	-	**+ (13%)**	-	-
	Rothia [Genus]	+	-	-	**+ (72%)**	-	-
	Bifidobacterium [Genus]	+	-	-	**+ (100%)**	-	-
	Oribacterium [Genus]	-	-	**+ (patienten)**	**+ (82%)**	-	-
	Salmonella [Genus]	+	+	-	**+ (10%)**	-	-
Virussen	Humaan metapneumovirus A/B	+	-	-	-	-	-
	Humaan para influenza virus 3	+	-	-	-	-	-
	Rhinovirus	+	-	-	-	-	-
	RS-virus A/B	+	-	-	-	-	-
Schimmels	*Aspergillus restrictus*	-	+	-	-	-	+
	Cryptococcus neoformans	-	+	-	-	-	-
	Eurotium amstelodami	-	+	-	-	-	-
	Eurotium rubrum	-	+	-	-	-	-
	Saccharomonospora viridis	-	+	-	-	-	-
	Saccharopolyspora rectivirgula	-	+	-	-	-	-

+ : *wel bewijslast uit de resultaten van de betreffende deelstudie.*
– : *geen aanvullende bewijslast uit de resultaten van de betreffende deelstudie.*
G : *mogelijk wel aanvullende bewijslast, echter vanwege (verschillen in) resolutie van de uitgevoerde sequencing analyses kan hier geen uitspraak op species-niveau worden gedaan. Daarvoor zou dieper gravend sequencing onderzoek nodig zijn.*

7.7 Literatuurlijst

1. Lee SH, Ruan SY, Pan SC, et al. Performance of a multiplex PCR pneumonia panel for the identification of respiratory pathogens and the main determinants of resistance from the lower respiratory tract specimens of adult patients in intensive care units. J Microbiol Immunol Infect. 2019;52(6):920-8.
2. Edin A, Eilers H, Allard A. Evaluation of the Biofire Filmarray Pneumonia panel plus for lower respiratory tract infections. Infect Dis (Lond). 2020;52(7):479-88.
3. Zar HJ, Barnett W, Stadler A, et al. Aetiology of childhood pneumonia in a well vaccinated South African birth cohort: a nested case-control study of the Drakenstein Child Health Study. Lancet Respir Med. 2016;4(6):463–72.
4. Gastli N, Loubinoux J, Daragon M, et al. Multicentric evaluation of BioFire FilmArray Pneumonia Panel for rapid bacteriological documentation of pneumonia. Clin Microbiol Infect. 2021;27(9):1308-14.
5. Odendaal M-L, de Steenhuijsen Piters WAA, Franz E, et al. Host and environmental factors shape upper airway microbiota and respiratory health across the human lifespan. Cell. 2024;187(17):4571-4585.e15.
6. CIGR. 4th Report of Working Group on Climatization of animal houses. Heat and moisture production at animal and house levels (eds. Pedersen, S. and K. Sällvik). 2002. International Commission of Agricultural Engineering (CIGR), Section II. Available online at: www.cigr.org.
7. Pedersen S, Blanes-Vidal H, Joergensen H, et al. Carbon dioxide production in animal houses: a literature review. Agricultural Engineering International: CIGR Ejournal. 2008; Manuscript BC 08 008 (Vol. X).
8. Mosquera J, Van Dooren HJC, Hol JMG, et al. Monitoring van methaan-, ammoniak- en lachgasemissies uit twee natuurlijk geventileerde geitenstallen: Praktijkmetingen in de periode oktober 2018-oktober 2020. Rapport 1378. 2022. Wageningen Livestock Research. https://doi.org/10.18174/572111.
9. Winkel A, Mosquera Losada J, Groot Koerkamp PWG, et al. Emissions of particulate matter from animal houses in the Netherlands. Atmospheric Environment. 2015;111:202-212.
10. Winkel A, Wouters IM, Aarnink AJA, et al. Emissies van endotoxinen uit de veehouderij: een literatuurstudie voor ontwikkeling van een toetsingskader. Rapport 773. 2014. Wageningen Livestock Research. https://edepot.wur.nl/310270.
11. Aarnink AJA, Mosquera Losada J, Cambra López M, et al. Emissies van stof en ziektekiemen uit melkgeitenstallen. Rapport 489. 2012. Wageningen UR Livestock Research. https://edepot.wur.nl/216316.
12. Aarnink AJA, Roest HIJ, Huis in 'T Veld JWH, et al. Emissies van stof en ziektekiemen uit melkgeitenstallen: aanvullende metingen. Rapport 712. 2014. Wageningen UR Livestock Research. https://edepot.wur.nl/297415.
13. Winkel A, Erbrink JJ, Wouters IM, et al. Emissies van endotoxinen uit de veehouderij: eindrapport endotoxine metingen. Rapport 1092. 2018. Wageningen Livestock Research. https://doi.org/10.18174/496898.
14. Gezondheidsraad. Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit. The Hague, the Netherlands: Gezondheidsraad (Health Council of the Netherlands). 1998.
15. CBS/WUR. Gemiddeld aantal dieren per bedrijf voor melkgeiten, leghennen, vleeskuikens, vleesvarkens en melkkoeien in 2020. 2020. https://agrimatie.nl. Wageningen Economic Research.
16. Shenhav L, Thompson M, Joseph TA, et al. FEAST: fast expectation-maximization for microbial source tracking. Nat Methods. 2019;16(7):627-632.
17. Basinas I, Schlünssen V, Takai H, et al. Exposure to Inhalable Dust and Endotoxin Among Danish Pig Farmers Affected by Work Tasks and Stable Characteristics. Ann Occup Hyg. 2013;57(8):1005–19.
18. Basinas I, Sigsgaard T, Erlandsen M, et al. Exposure-Affecting Factors of Dairy Farmers' Exposure to Inhalable Dust and Endotoxin. Ann Occup Hyg. 2014;58(6):707–23.
19. Bønløkke JH, Veillette M, Mériaux A, et al. Work-related health effects in swine building workers after respiratory protection use. J Occup Environ Med. 2012;54(9):1126–32.
20. Winkel A, Mosquera J, Groot Koerkamp PWG, et al. Emissions of particulate matter from animal houses in the Netherlands. Atmospheric Environment. 2015;111:202–12.

8 Conclusies en discussie

8.1 Update epidemiologische studies

In de epidemiologische studies die als onderdeel van VGO-III zijn uitgevoerd (hoofdstuk 3) ondersteunen de resultaten van de gebiedsvergelijkingen de eerder waargenomen associaties tussen longontsteking en wonen in gebieden met een hoge veehouderijdichtheid. Door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking komt in alle onderzochte jaren tussen 2014 en 2019 meer voor binnen het VGO-onderzoeksgebied, en in het UGO-onderzoeksgebied in vergelijking met de veehouderij-arme controlegebieden in de onderzochte jaren 2014-2017. Er is in alle onderzoeksgebieden voor alle onderzochte jaren een verband gevonden tussen door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking en het wonen binnen afstanden variërend van 500 tot 2.000 meter van een geitenhouderij. De verhoogde incidentie van longontsteking bleek in veedichte regio's en rond geitenhouderijen niet maand- of seizoensgebonden te zijn, maar was het hele jaar door aanwezig. Het verhoogde risico op longontsteking nabij geitenhouderijen correspondeerde in het VGO-onderzoeksgebied met ongeveer 89 (gemiddeld over de jaren 2009-2013) tot 127 (gemiddeld over de jaren 2014-2016) vermijdbare gevallen per 100.000 inwoners per jaar. In het UGO-onderzoeksgebied betrof dit 10 tot 50 vermijdbare gevallen per 100.000 inwoners per jaar voor drie van de vier afzonderlijke jaren 2014-2017. In de meta-analyse werd een verband gevonden met de aanwezigheid van geiten binnen 500 meter maar geen additioneel effect van het aantal geiten binnen die 500 meter. Door het relatief kleine aantal patiënten per huisartspraktijk, en beperkte spreiding in bedrijfsomvang van geitenhouderijen in de omgeving van een praktijk, is het moeilijk om naast het effect van de aanwezigheid van een bedrijf in de 500 meter buffer een effect aan te tonen tussen bedrijfsgrootte en longontsteking bij deze patiënten.

In deze epidemiologische studies werd ook aanvullend naar associaties tussen longontstekingen en woonafstand tot pluimveehouderijen gekeken (zie paragraaf 3.3). In het vervolg van VGO-III is de pluimveehouderij geen onderwerp meer geweest van onderzoek.

De oorzaken van het verhoogde risico op longontsteking voor omwonenden van geitenhouderijen kunnen niet uit huisartsengegevens worden gehaald. Zoals aangegeven in hoofdstuk 1 stellen huisartsen veelal de diagnose op het klinische beeld, zonder aanvullend diagnostisch laboratoriumonderzoek. Uit huisartsengegevens is daarom niet af te leiden of er rond geitenhouderijen andere ziekteverwekkers in het spel zijn dan elders in Nederland.

8.2 Literatuurstudie

Op basis van een in drie fasen uitgevoerd literatuur-onderzoek (hoofdstuk 4) is een lijst opgesteld van in totaal 96 verschillende micro-organismen waarvan is beschreven dat ze voorkomen bij geiten en die bij mensen longontsteking kunnen veroorzaken. Op deze lijst met 76 bacteriën, 7 schimmels, 6 protozoa en 7 virussen, staan micro-organismen die een veel voorkomende oorzaak zijn van longontsteking, zoals *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella* spp. en *Staphylococcus aureus*. Er is een gewogen prioritering uitgevoerd op basis van de literatuur en van expert-opinies, waarbij *Moraxella* spp., *Chlamydia psittaci*, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *Escherichia coli* en *Klebsiella pneumoniae* de hoogst scorende bacteriën waren. De conclusie uit het literatuuronderzoek was dat er veel verschillende soorten micro-organismen afkomstig van geiten zijn, waarvan bekend is dat ze een longontsteking bij de mens kunnen veroorzaken. Daarom moeten de methoden om de oorzaak van de verheffing van longontsteking rond geitenhouderijen te onderzoeken breed zijn, zodat een veelheid van potentiële ziekteverwekkers gedetecteerd kan worden.

8.3 Onderzoek naar de mogelijke oorzaak

Om een antwoord te kunnen geven op de vraag welk(e) micro-organisme(n) de oorzaak zou(den) kunnen zijn van het verhoogde risico op longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen, is onderzoek gedaan met verschillende deelstudies: zowel op geitenbedrijven, met luchtmetingen rond omwonenden van geitenbedrijven en met gezondheidsonderzoek in drie blootgestelde populaties (patiënten met longontsteking rond geiten-bedrijven, omwonenden zonder longontsteking rond geitenbedrijven en geitenhouders).

8.3.1 Resultaten voor hoofdhypothese

De resultaten van de deelstudies zijn samengebracht en geanalyseerd volgens een 'integratie', zoals beschreven in de methoden in hoofdstuk 6.7 en weergegeven in Tabel 6.5 en Tabel 6.6 aldaar. Kort gezegd, brengt deze integratie de uitkomsten uit de verschillende deelstudies bij elkaar in termen van 'bewijslast' voor de hoofdhypothese dat geitenhouderijen de bron zijn van ziekteverwekkers, die zich verspreiden via de lucht naar omwonenden. In de resultaten-synthese I wordt de bewijslast sterker als een micro-organisme dat longontsteking kan veroorzaken bij mensen en dat vaak aanwezig is in luchtmonsters van geitenbedrijven (op minimaal 25 procent van de deelnemende bedrijven), bijvoorbeeld ook aanwezig is in de leefomgeving rond geitenhouderijen, en ook aanwezig is bij de populaties van het gezondheidsonderzoek, zoals beschreven in hoofdstuk 7.6. In de resultaten-synthese II, uitgaande van de micro-organismen die bewijslast hebben uit de gezondheidsstudie, is als extra bewijslast nagegaan welk van deze micro-organismen ook op de geitenhouderijen of in de lucht in de omgeving gevonden werden. Op basis van de gehele resultaten-synthese (zie hoofdstuk 7.6 Tabel 7.9 en Tabel 7.10) is het mogelijk om een lijst op te stellen van geprioriteerde kandidaat micro-organismen, waarvan het bekend is dat ze longontsteking kunnen veroorzaken bij mensen, en die op basis van de bevindingen uit dit VGO-III-onderzoek naar voren komen als meest belangrijke kandidaten die zich uit de geitenhouderij als bron zouden kunnen verspreiden via de lucht naar omwonenden. De bewijslast toont in geen enkel geval een oorzakelijk verband aan, ook niet voor de hoogst geprioriteerde micro-organismen. De bevindingen uit de resultaten-syntheses bij de genoemde hypothese geven geen aanleiding tot het prioriteren van virussen. Hetzelfde geldt voor de schimmels: uit de resultaten-syntheses komen alleen enkele schimmelsoorten naar voren, die zeer algemeen voorkomen. Vanwege het zeer algemeen voorkomen van de geïdentificeerde schimmels, beschouwen we deze niet als te prioriteren kandidaten voor de onderliggende oorzaak van de link tussen longontsteking bij omwonenden en woonafstand tot geitenbedrijven. De resultaten-synthese geeft voor bacteriën wel aanleiding tot een lijst geprioriteerde kandidaten. Deze lijst komt per saldo voort uit de resultaten-synthese I. Dit is omdat de resultaten-synthese II slechts geringe bewijslast opleverde voor aanvullende bacteriën. Er werd in de resultaten-synthese II weliswaar voor een aantal aanvullende bacteriën (soorten en genera) enige mate van bewijslast in de gezondheidsstudie gevonden, echter afgezien van één genus met hooguit beperkte aanwezigheid op de geitenbedrijven komen deze bacteriën niet of nauwelijks voor in de luchtmonsters in de leefomgeving of op de geitenbedrijven. Om deze redenen zijn deze niet in de lijst van geprioriteerde kandidaten opgenomen. Op de 'shortlist geitenhouderij', het startpunt voor de resultaten-synthese I, staan 27 bacteriën op soort-niveau en 5 bacteriën op genus-niveau (genus= taxonomisch geslacht). Voor 9 van de 27 bacteriën die op soort-niveau op de lijst staan, gaven de andere deelstudies geen aanvullende aanwijzingen die de relevantie van deze kandidaten verder ondersteunen, terwijl de analyses in deze deelstudies wel in staat zouden zijn geweest om deze soorten aan te treffen. De overige 18 bacteriesoorten zijn opgenomen in de alfabetische lijst in Tabel 8.1 van geprioriteerde kandidaten. Voor elk van de 5 bacteriën die op genus-niveau op de 'shortlist geitenhouderij' staan, kwamen er ook uit de andere deelstudies aanwijzingen die de relevantie ondersteunen. Ook deze 5 bacteriegenera zijn opgenomen in de alfabetische lijst in Tabel 8.1 van geprioriteerde kandidaten.

Tabel 8.1 Lijst van geprioriteerde kandidaat micro-organismen (in dit geval bestaand uit bacteriesoorten en -genera). Dit zijn micro-organismen waarvan het bekend is dat ze longontsteking kunnen veroorzaken bij mensen, en die op basis van de bevindingen uit dit VGO-III-onderzoek naar voren komen als meest belangrijke kandidaten voor een microbiologische oorzaak van het vaker voorkomen van longontsteking bij mensen die in de buurt van geitenhouderijen wonen. Voor deze kandidaten geldt dat ze elk voorkwamen op minimaal 25% van de deelnemende geitenbedrijven in de deelstudie geitenbedrijven, en dat er aanvullende aanwijzingen kwamen uit één of meerdere van de overige deelstudies.

Bacteriesoort of -genus
Acinetobacter baumannii
Acinetobacter haemolyticus
Actinomyces [Genus]
Clostridium perfringens sensu stricto 1
Enterococcus hirae
Fusobacterium necrophorum
Klebsiella pneumoniae
Lactococcus lactis
Micrococcus [Genus]
Micrococcus luteus
Moraxella [Genus]
Mycobacterium [Genus]

Bacteriesoort of -genus
Nocardia [Genus]
Paeniclostridium sordellii
Pseudomonas putida
Staphylococcus aureus
Staphylococcus cohnii
Staphylococcus lentus
Staphylococcus lugdunensis
Staphylococcus saprophyticus
Stenotrophomonas maltophilia
Streptococcus dysgalactiae
Streptococcus pluranimalium

8.3.2 Resultaten voor alternatieve hypothese

Een niet-infectieus agens (de alternatieve hypothese), bijvoorbeeld stof en/of endotoxinen afkomstig van geitenhouderijen, als oorzaak van het hogere risico op longontsteking is niet aannemelijk (zie ook hoofdstuk 7.6). Het consistente verband van een verhoogd risico op longontstekingen rond geitenhouderijen, gecorrigeerd voor de aanwezigheid van andere veehouderijtypen, wijst op een specifieke oorzaak voor de geitenhouderij. Met andere woorden, een agens dat alleen/vooral/ in bijzonder hoge mate in geitenhouderijen voorkomt. Endotoxinen zijn dan minder waarschijnlijk als verklaring, omdat dit algemene microbiologische toxinen zijn die op alle veehouderijen voorkomen, ongeacht de diersoort; daarnaast is de stofemissie vanuit geitenbedrijven laag ten opzichte van andere belangrijke veehouderijtypen (zie ook hoofdstuk 7.6). Het verhoogde risico op longontsteking in het VGO-onderzoeksgebied en in de andere regio's met veel veehouderijen zou daarentegen wel kunnen samenhangen met de hogere blootstelling aan (niet-infectieuze) luchtverontreiniging.

8.3.3 Conclusies over mogelijke oorzaak

Geconcludeerd kan worden dat uit de integratie van de resultaten van de verschillende deelstudies van VGO-III een lijst van kandidaat-ziekteverwekkers is geïdentificeerd, die voorkomen op geitenhouderijen, die zich kunnen verspreiden via de lucht naar omwonenden en bij deze mensen mogelijk longontsteking kunnen veroorzaken. Niet één micro-organisme, maar een lijst van meerdere kandidaat-bacteriën is in de resultaten-synthese naar voren gekomen (Tabel 8.1).

8.4 Duiding van de kandidatenlijst bacteriën

De experts-opinie, die is verzameld in het kader van de literatuurstudie, kon worden gebruikt om te duiden welke bacteriën op de kandidatenlijst op basis van aanvullende klinische en/of microbiologische informatie meer of minder relevant zijn als mogelijke oorzaak van longontstekingen van omwonenden van geitenbedrijven. De 32 bacteriën van de shortlist geitenhouderij komen ook voor op de lijst uit de literatuurstudie van bacteriën geïdentificeerd als voorkomend bij geiten en waarvan bekend is dat deze bacteriën longontsteking bij mensen kunnen veroorzaken (hoofdstuk 4). Na prioritering aan de hand van de experts-opinie komen *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella* spp. en *Staphylococcus aureus* bovenaan op de lijst van de literatuurstudie. Deze bacteriën komen, met uitzondering van *S. pneumoniae*, ook voor op de uiteindelijke geprioriteerde kandidatenlijst (Tabel 8.1). Hoewel de experts in de literatuurstudie niet zijn bevraagd over het voorkomen van longontstekingen rond geitenbedrijven, maar alleen een inschatting hebben gemaakt van de relevantie van de bacteriën op basis van de oorzaak van een door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking ook wel community acquired pneumonia (CAP) genoemd, is deze inschatting wel bruikbaar voor de kandidatenlijst. Voor een groot aantal bacteriën was er consensus onder de experts dat zij deze (zeer) onwaarschijnlijk achtten als oorzaak van CAP. Dit kwam omdat deze bacteriën alleen beschreven zijn bij een enkele case-study en weinig ziekteverwekkend worden bevonden zoals *Micrococcus luteus*, *Stenotrophomonas maltophilia* en *Lactococcus lactis*. Een andere reden waarom sommige bacteriën als minder aannemelijk worden beschouwd door sommige experts, is dat de bacterie als oorzaak van longontsteking alleen in zeldzame gevallen voorkomt bij mensen met verminderde weerstand zoals *Enterococcus hirae*, *Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus* lugdunensis en *Staphylococcus saprophyticus*. Daarnaast kan bij mensen met een verminderde weerstand juist een ernstige longontsteking voorkomen indien veroorzaakt door *Acinetobacter baumannii* en *Acinetobacter haemolyticus*. Dat laatste geldt ook voor *Clostridium perfringens sensu stricto 1*. Het lijkt daarom niet aannemelijk dat deze bacteriën de oorzaak zijn van een CAP. Voor *Actinomyces*-soorten gold in de gezondheidsstudies dat deze vaker werden aangetroffen bij patiënten die in de buurt van geitenhouderijen wonen, dan bij patiënten die verder weg wonen en ook vaker bij patiënten in vergelijking met controlepersonen. Hoewel *Actinomyces* spp beschreven zijn als 'bacteriën die bij gezonde mensen kunnen voorkomen in de neus of de keel', zijn het ook verwekkers van longontsteking. Pulmonaire actinomycose is echter een ernstige longontsteking, die een intraveneuze behandeling met antibiotica vereist, zodat ook hier de bacterie niet waarschijnlijk lijkt als oorzaak van CAP. Het bacteriegenus *Moraxella* werd hoog geprioriteerd in de literatuurstudie als voorkomend bij geiten en oorzaak van longontsteking. Met name *Moraxella* catarhalis is een bekende verwekker van longontstekingen bij mensen. *Moraxella catarrhalis* werd in beide patiëntengroepen (<2.000 meter en >2.000 meter) significant vaker aangetoond ten opzichte van de groep geitenhouders, maar niet tussen de patiënten onderling. Als genus werd *Moraxella* vaak teruggevonden in de geitenbedrijvenstudie; daarbij is de soort *M. catarrhalis* teruggevonden op (slechts) één aan de studie deelnemend geitenbedrijf. Mogelijk komen andere *Moraxella*-soorten voor bij de geitenbedrijven. *Moraxella* caprae komt voor in de neus van gezonde geiten.[1] Met de onderzoeksmethoden die in deze studie zijn gebruikt, was het niet mogelijk om *Moraxella* spp, anders dan *M. catarrhalis*, te onderscheiden. De bacterie *Klebsiella pneumoniae*, een bekende verwekker van CAP, werd gevonden op geitenbedrijven, maar niet in de buitenlucht en heel weinig bij patiënten en controles, en ook niet in geitenhouders.

Voor alle bacteriën op de kandidatenlijst van Tabel 8.1 geldt dat deze gevonden zijn op geitenbedrijven en dat bevindingen in de andere deelstudies van VGO-III er in meer of mindere mate extra bewijslast voor geven. Zoals hierboven al vermeld, toont de bewijslast in geen enkel geval een oorzakelijk verband aan, ook niet voor de hoogst geprioriteerde bacteriën. In dit verband is ook relevant te vermelden dat deze bacteriën op de kandidatenlijst niet specifiek alleen bij geiten voorkomen. De consistente bevinding van meer longontsteking bij omwonenden dichtbij geitenbedrijven maakt het echter aannemelijk dat mensen meer blootgesteld worden aan deze bacteriën, afkomstig van geitenbedrijven, want voor andere veehouderijsystemen geldt deze consistente bevinding niet. En hoewel de meeste van deze bacteriën door experts als minder aannemelijk worden aangemerkt als oorzaak van CAP, is het onbekend wat het effect is van een meer langdurige blootstelling met een onbekende dosis van deze bacteriën op de ontwikkeling van CAP. Voor zowel de controlegroep als ook de patiëntengroep zijn geen associaties gevonden voor woonafstand tot geitenhouderijen met microbiële samenstelling en diversiteit in hun keel- en neusswabs. Hierdoor is het minder aannemelijk dat het verhoogde risico op longontsteking gerelateerd is aan een verschuiving in het luchtwegmicrobioom voor naaste omwonenden van geitenhouderijen.

8.4.1 Mogelijk verband met bedrijfsfactoren

Voor elke kandidaat-ziekteverwekker uit deze geprioriteerde groep is met behulp van een 'clustering algoritme' nagegaan of de aanwezigheid samenhangt met bedrijfsfactoren op de zestien deelnemende bedrijven. Er bleek echter geen enkel verband aantoonbaar (paragraaf 7.3.3).

8.4.2 Zijn er specifieke bronnen op het bedrijf aan te wijzen?

In principe zouden interventiemethoden, gericht op de verminderde uitstoot van microbiële aerosolen vanuit de stal, het blootstellen van de directe omgeving aan ziekteverwekkers kunnen verminderen. Voor een mogelijk meer specifiek handelingsperspectief is het relevant om na te gaan of er specifieke bronnen zijn op het bedrijf, die verantwoordelijk zijn voor één of meer van de ziekteverwekkers op de kandidatenlijst. Dergelijke analyses van de herleidbaarheid naar een specifieke bron worden bronattributie-analyses genoemd. In Bijlage 6 Figuur B6.1 is voor deze geprioriteerde groep bacteriën uitgezet in welke mate deze in de verschillende monstertypen (bronnen), anders dan de stallucht, is aangetroffen. Hieruit blijkt dat hier geen eenduidige koppeling tussen kandidaat-ziekteverwekker en monstertype/bron aanwezig is. Er zijn wel verschillen tussen bacteriën in de mate waarin ze werden gevonden in verschillende monstertypen. Zo zijn er bacteriesoorten (of bacteriegenera), die vooral te vinden zijn in het stalmilieu. Andere soorten (of genera) zijn duidelijk meer voer/water geassocieerd. En er zijn soorten (of genera) die vooral aanwezig zijn in de melk. Er is in paragraaf 7.3.3.2 ook een bronattributie-analyse uitgevoerd op basis van het totale microbioom. Deze analyse geeft inzicht in hoe het gemeten (stal) luchtmicrobioom als geheel kan worden herleid tot onderliggende bronnen. De resultaten laten zien dat bedding en stalmest de grootste relatieve bronbijdragen leveren aan het gemeten luchtmicrobioom.

8.5 Discussie

VGO-III is een unieke studie, en is niet te vergelijken met andere studies uit het buitenland. Hieronder bespreken we relevante beperkingen en belemmeringen die een rol speelden in dit onderzoek, in hoeverre deze mogelijk invloed hadden op de resultaten, en welke nuanceringen dit met zich meebrengt voor de conclusies uit dit onderzoek.

De analyses van de 'patiëntenstudie' werden sterk belemmerd. Dit kwam doordat er minder patiënten met een longontsteking in de studie konden worden geïncludeerd dan oorspronkelijk beoogd, namelijk 108 geïncludeerde patiënten in plaats van de beoogde 600 tot 800 patiënten. Oorzaak was de COVID-19-pandemie, die in 2020 aanving en in eerste instantie met name het VGO-gebied hard trof. Patiënten met luchtwegklachten kwamen tijdens (en ook na) de pandemie minder vaak naar de huisartsenpraktijk voor een face-to-face-consult, waardoor de incidentie van longontsteking sterk daalde. Ook de genomen maatregelen om de transmissie van het coronavirus te beperken (afstand, lockdown), speelden hierbij een rol. Daarnaast werd de zorg in de huisartspraktijk in die periode anders georganiseerd, waardoor het nagenoeg onmogelijk werd om (extra) keel- of neusswabs voor de studie af te nemen door de huisarts. Zo waren er bijvoorbeeld hoestspreekuren waar mensen niet altijd bij hun eigen huisarts terecht konden, of werden mensen met respiratoire klachten veelal direct verwezen naar de teststraten. Ondanks alle inspanningen van de onderzoekers om de huisartsen extra te motiveren, het uitdenken van andere manieren om patiënten te includeren en een langere onderzoeksperiode is de inclusie van patiënten tot het gewenste aantal niet gerealiseerd. Dit betekent dat er mogelijk te weinig gegevens zijn verzameld om een statistisch significant verschil te kunnen aantonen in de detectie van een bepaalde ziekteverwekker tussen patiënten die dicht bij een geitenhouderij wonen en patiënten die verder weg wonen.

Naast de geringe inclusie van patiënten door de COVID-19-pandemie waren er nog meer beperkingen die genoemd moeten worden. In de klinische praktijk wordt niet routinematig (aanvullende) diagnostiek gedaan bij patiënten met een longontsteking. Om in dit onderzoek toch iets te kunnen zeggen over mogelijke ziekteverwekkers is ervoor gekozen een neus- en keelswab af te nemen, omdat dit de minst invasieve methode is. Ondanks dat keel-en neusswabs vaak gebruikt worden voor diagnostiek van respiratoire infecties, is dit mogelijk een beperking in deze studie. De mogelijkheid bestaat immers dat de verwekker van de longontsteking al niet meer aantoonbaar was toen de patiënt met klachten bij de huisarts kwam. Ziekteverwekkers zijn namelijk veel korter aanwezig en dus aantoonbaar (zogenaamde diagnostisch deficit), dan bijvoorbeeld antilichamen, die gevormd worden tijdens een infectie door een longontsteking. Dit is te ondervangen door ook bloedonderzoek uit te voeren. Dat zou echter een andere opzet van de studie betekend hebben, waarbij tweemaal bloed afgenomen moest worden (bij vaak ernstig zieke oudere patiënten) om een stijging van antilichamen te kunnen aantonen. Deze studieopzet werd als 'te invasief' en 'praktisch onhaalbaar' ingeschat. Dit werd deels ondervangen door wel bloed af te nemen van geitenhouders, omdat zij als eerste blootgesteld worden aan een ziekteverwekker die afkomstig is van hun bedrijf. Maar ook serologie kent beperkingen, zoals

beperkte beschikbaarheid van pathogeen-specifieke testen en mogelijke kruisreactiviteit tussen testen door overeenkomsten tussen micro-organismen. In VGO-III is bij geitenhouders en controles beperkt gekeken naar blootstelling aan bepaalde schimmels.
Een volgende beperking was dat maar een beperkt aantal bekende humane ziekteverwekkers die respiratoire klachten kunnen geven, werd getest in de multiplex PCR. Dit zijn veel voorkomende bacteriën en virussen, die relevantie hebben voor humane diagnostiek.
Voor wat betreft bacteriën is dit aangevuld door in de gezondheidsstudies ook microbioom-onderzoek te doen gebaseerd op 16S rRNA-gen-analyses. Hierbij werd een totaalbeeld van aanwezige bacteriën in de keel en neus weergegeven, dat vervolgens vergeleken kon worden tussen patiënten, controles en geitenhouders. Maar met deze methode waren veel bacteriën alleen op genus-niveau te identificeren.

Het aantonen van aanwezige virussen werd in de gezondheidsstudies beperkt door gebruik van PCR-testen voor bekende verwekkers van CAP. Met niet-gerichte viroom-bepaling zal breder gekeken worden (resultaten nog niet getoond). Daarnaast zijn de luchtfilters uit de leefomgeving niet op virussen onderzocht. Maar omdat in de geitenbedrijvenstudie in detail is gekeken naar de aanwezigheid van voor CAP mogelijk relevante virussen en ook naar virussen waarvoor associatie met CAP nog niet bekend is, en dit geen serieuze kandidaten opleverde, is het ondanks de beperktere studie van virussen in de andere deelstudies niet aannemelijk dat er serieuze viruskandidaten gemist zijn in dit onderzoek.

8.6 Aanbevelingen

Het is belangrijk om de incidentie van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen te blijven monitoren om na te gaan of de verhoogde incidentie in de toekomst blijft bestaan. Daarom wordt aanbevolen om de epidemiologische studies, zoals beschreven in hoofdstuk 3, ook de komende jaren, in periodes van 3 à 4 jaar, te herhalen. Vanwege de vergelijkbaarheid met de resultaten van eerdere studies zouden opzet en methoden identiek moeten zijn, inclusief kernel-analyses.

Daarnaast wordt aanbevolen om te onderzoeken of op geitenbedrijven door bepaalde interventies, dat wil zeggen mogelijke aanpassingen in de bedrijfsvoering, de hoeveelheid ziekteverwekkers in de stal- en omgevingslucht omlaag gebracht kan worden met als doel het verminderen van blootstelling van de omwonenden aan ziekteverwekkers. Wat betreft aanpassingen in de bedrijfsvoering valt bijvoorbeeld te denken aan alternatieven voor omgang met stalmest en strooisel. Het effect van interventies op concentraties en emissies van ziekteverwekkers zou kunnen worden bestudeerd met luchtmetingen zoals uitgevoerd in dit onderzoek.

8.7 Literatuurlijst

1. Kodjo A, Tønjum T, Richard Y, et al. Moraxella caprae sp. nov., a new member of the classical Moraxellae with very close affinity to Moraxella bovis. Int J Syst Bacteriol. 1995;45(3):467-71.

9 Beantwoording vraagstellingen

In het VGO-III programma zijn de verhoogde risico's op longontsteking onderzocht met als doel mogelijk causale verbanden te leggen tussen het frequenter voorkomen van longontstekingen bij omwonenden van geitenhouderijen om zo mogelijk tot effectieve preventieve maatregelen te komen. Hieronder beantwoorden we de vijf hoofdvraagstellingen op geleide van de onderzoeksresultaten.

1. Is het risico op longontsteking rond geitenhouderijen in het VGO-gebied nog aanwezig in de jaren nadat de laatste observatie is gedaan van dit verhoogde risico (2013)?

   Gedurende 2014-2019 zijn de epidemiologische studies van 2007-2013 herhaald in het VGO-gebied, gebruikmakend van verschillende methoden (zie hoofdstuk 3). Er werd een consistent verhoogd risico gevonden rond geitenhouderijen (consistent dus voor 13 jaren, 2007-2019).

   En zo ja, wat is de omvang van de risico's, mede in vergelijking met de eerdere observaties over de periode 2007-2013?

   De gevonden risico's op longontsteking in de nabijheid van geitenhouderijen zijn van dezelfde orde van grootte als de eerdere observaties in de IVG- en VGO-I-studies. Daarbij gaat het om een afstand van woning tot dichtstbijzijnde geitenhouderij van 500-1.000 meter en in sommige periodes 2.000 meter.

2. Wordt er op basis van huisartsgegevens ook een verhoogd risico op longontsteking gevonden in andere gebieden in Nederland waar geiten- en/of pluimveebedrijven voorkomen?

   Ook in andere provincies (Overijssel, Gelderland en Utrecht) werden dezelfde epidemiologische onderzoeken uitgevoerd en werd een vergelijkbaar verhoogd risico op longontstekingen in de nabijheid van geitenhouderijen gevonden.

3. Wat zijn mogelijke verwekkers van longontsteking bij omwonenden van geitenhouderijen? Welke geit- of geitenhouderij-gerelateerde ziekteverwekkers kunnen een longontsteking bij mensen veroorzaken (respiratoire zoönosen)?

   In de literatuurstudie (hoofdstuk 4) is een inventarisatie gemaakt welke micro-organismen op geitenbedrijven kunnen voorkomen door de (inter)nationale literatuur te screenen. Van deze lijst van micro-organismen is vervolgens onderzocht welke bij mensen longontsteking zouden kunnen veroorzaken. Deze lijst is vervolgens geprioriteerd op basis van literatuur en expert-opinies. Deze lijst is als basis gebruikt om de gezondheidsstudies en de geitenbedrijvenstudie op te zetten, waarbij een brede aanpak om micro-organismen te detecteren is gebruikt.

4. Geeft een positieve serologie of dragerschap van ziekteverwekkers bij geitenhouders aanwijzingen voor risico's op longontsteking voor omwonenden?

   De resultaten van serologische testen toonden een sterkere reactie van het afweersysteem op blootstelling aan een aantal schimmels (met name Aspergillus-soorten) onder geitenhouders dan onder controlepersonen. Deze schimmelsoorten komen echter zeer algemeen voor en zijn daarom geen geprioriteerde kandidaten als verwekker van longontstekingen.

5. Welke micro-organismen circuleren er op geitenhouderijen die bij de mens longontsteking zouden kunnen veroorzaken? En zijn deze ziekteverwekkers in de lucht meetbaar, met andere woorden, is te verwachten dat deze ziekteverwekkers verhoogde risico's tot op 2.000 meter afstand kunnen verklaren? Welke bedrijfskenmerken of specifieke werkzaamheden (bijvoorbeeld gerelateerd aan mestbewerking) hangen samen met de aanwezigheid of de uitstoot van dergelijke ziekteverwekkers?

   De synthese van de resultaten uit de verschillende deelstudies gaf aanleiding tot een geprioriteerde kandidatenlijst van bacteriën, die vaak voorkwamen in stalluchtmonsters genomen op de bemonsterde geitenbedrijven en waarvan uit de literatuur bekend is dat ze longontsteking bij de mens kunnen

veroorzaken. Hierop staan 27 bacteriën op soort-niveau en 5 bacteriën op genus-niveau (genus= taxonomisch geslacht). Dat deze bacteriën voorkomen in de stallucht is beschouwd als een voorwaarde om verhoogde risico's voor longontsteking bij omwonenden tot op 2.000 meter afstand te kunnen verklaren. Voor 15 van de bacteriën die op soort-niveau op de lijst staan, gaven de andere deelstudies aanvullende aanwijzingen, die de relevantie van deze kandidaten verder ondersteunen. In het bijzonder werden van deze 15 er 13 ook in luchtmonsters in de leefomgeving aangetoond. Er konden geen bedrijfskenmerken of specifieke werkzaamheden worden geïdentificeerd, die samenhangen met de aanwezigheid of de uitstoot van de bacteriën op de geprioriteerde kandidatenlijst; daarvoor zou verder gericht onderzoek nodig zijn.

10 Dankwoord

Wij bedanken alle deelnemende huisartspraktijken in de vijf provincies, Youri Moleman, Elsbeth Stravers, Eeke Steenaart, Mayra Klinkhamer, Mark Nielen, Rodrigo Davids en andere medewerkers van Nivel Zorgregistraties en Zorg TTP. Ook bedanken we alle patiënten, controlepersonen en geitenhouders en medewerkers, die hebben deelgenomen aan de gezondheidsstudies. Verder bedanken we de omwonenden, die het mogelijk hebben gemaakt om de meetpalen te plaatsen.

Wij bedanken de zestien geitenhouders die met hun bedrijf hebben deelgenomen aan de geitenbedrijvenstudie, voor toegang tot hun bedrijf voor nemen van monsters en het uitvoeren van 24-uursmetingen, en voor het verstrekken van informatie over hun bedrijf en bedrijfsmanagement.

Wij bedanken Jos Tolboom (LTO) en andere betrokken vertegenwoordigers van de geitensector.

Wij bedanken Karianne Peterson (Royal GD) voor adviezen bij onderdelen van de geitenbedrijvenstudie.

Vanuit de Universiteit Utrecht bedanken we Maartje Pronk, Bernadette Aalders, Kaitlin Prins, Duco Ottevanger, Teus Dorresteijn, Tom Verhoeve, Sigrid Nieuwenweg, Nathalie Jansen, Claire Sluik, Isabella van Schothorst, Marieke Oldenwening, Monique Tersteeg, Eef van Otterloo, Hadassa van Hoorn, Peter Scherpenisse, Jack Spithoven, Ranem Alhaw, Maartje Huitink, Aphrodite Lazarakou, Ifeoluwa Olufotebi, Annalou Westerhof.

Vanuit Wageningen Universiteit en Research bedanken we Frank Harders, Albert de Boer, Stephanie Vastenhouw, Marga van Setten, Theo van Hattum, Anne Brinkman, Thijs Almekinders, Corry Dolstra, Pieter Roskam en Sophie van Oort.

Andere organisaties: Stichting Informatie Voorziening Zorg (SIVZ, Houten; trusted third party). Parasitology-Mycology Team, Besancon University Hospital (CHRU Besancon).

Vanuit RIVM bedanken we Arieke Docters van Leeuwen, Noël Peters en Simone Severin voor het organiseren en notuleren van de stuurgroep gedurende alle jaren van het VGO-III-programma. Ragna Opten, Chantal Bourgonje en Marieke Timmermans voor de communicatie rond het VGO-programma gedurende deze jaren. Eelco Franz, Lapo Mughini-Gras, Arjen van de Giessen, Susan van den Hof en Menno de Jong voor het kritisch lezen en becommentariëren van het rapport. En, last but not least, Anouk Meijs voor het prepareren van alle hoofdstukken tot een rapport.

11 Verklarende woordenlijst

16s rRNA sequencing	Methode om bacteriële diversiteit uit complexe microbiomen of omgevingen te identificeren en te vergelijken
AIO	Assistent In Opleiding, promovendus
ASV	Amplicon Sequence Variant
CAP	Community Acquired Pneumonia, door de huisarts gediagnosticeerde longontsteking
CBS	Centraal Bureau voor de Statistiek
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CO_2	Koolstofdioxide
CRP-test	C-reactieve Proteïne-test.
DHD	Dutch Hospital Data
DNA	Desoxyribonucleïnezuur. Molecuul dat alle erfelijke informatie van een organisme bevat, ook wel het genetisch materiaal
ELISA	Laboratoriumtest voor het meten van macromoleculaire stoffen zoals eiwitten in Bloedmonsters
EDC	Elektrostatische stofvanger
EPD	Elektronisch Patiëntendossier
EU	Endotoxin Unit
EZ/LI	Ministerie van Economische zaken, Landbouw en Innovatie
GGD	Gemeentelijke Gezondheidsdienst
ICPC	International Classification of Primary Care
IRAS	Institute for Risk Assessment Sciences
I&R	Identificatie- en Registratiesysteem
IVG	Intensieve Veehouderij en Gezondheid
KNMI	Koninklijk Nederlands Meteorologisch Instituut
LML	Landelijk Meetnet Luchtkwaliteit
LTO	Land- en Tuinbouw Organisatie
LVVN	Ministerie van Landbouw, Visserij, Voedselzekerheid en Natuur
METC	Medisch-Ethische Toetsingscommissie
NCOH	Netherlands Centre for One Health
NGZO	Nederlandse GeitenZuivel Organisatie
Nivel	Nederlands instituut voor onderzoek van de gezondheidszorg
OR	Odds Ratio
PCR	Polymerase Chain Reaction (polymerasekettingreactie)
PCoA	Principale Coördinatenanalyse
$PM_{2,5}$	Fijnstof (Particulate Matter) met een grootte tot 2,5 micrometer doorsnee
PM_{10}	Fijnstof (Particulate Matter) met een grootte tot 10 micrometer doorsnee
PM_{100}	Grovere stof met een grootte tot 100 micrometer doorsnee
ppmv	parts per million by volume
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu
RNA	Nucleïnezuur vergelijkbaar met DNA maar met een enkelvoudige streng
RVO	Rijksdienst voor Ondernemend Nederland
SD	Standaard Deviatie
UGO	Onderzoeksgebied in regio's in Utrecht, Gelderland, en Overijssel

UMCU	Universitair Medisch Centrum Utrecht
UU	Universiteit Utrecht
VGO	Veehouderij en Gezondheid Omwonenden
VWS	Ministerie van Volksgezondheid, Welzijn en Sport
WBVR	Wageningen Bioveterinary Research
WMO	Wet Medisch-wetenschappelijk Onderzoek met mensen
WUR	Wageningen University Research

Bijlage 1 - Methoden PCR-gezondheidsmetingen

Behorende bij paragraaf 6.2.1.

Toelichting

De laboratoriumtechniek PCR is gebruikt om DNA/RNA van verschillende soorten verwekkers (bacteriën, virussen en schimmel) van luchtweginfecties bij de mens aan te tonen. In dit onderzoek is gebruikgemaakt van een multiplex PCR-test (FTD Respiratory pathogens 33, ontwikkeld door Fast Track Diagnostics Ltd.) die test op de aanwezigheid van 33 verschillende ziekteverwekkers in keel- en neusswabs afgenomen bij de deelnemers van het VGO-III-onderzoek. Tabel B1.1 geeft een overzicht van de 33 verschillende ziekteverwekkers waarop getest is. Additioneel zijn er nog twee PCR's uitgevoerd om *Coxiella burnetii* (de verwekker van Q-koorts) en SARS-CoV-2 (de verwekker van COVID-19; multiplex op 2 genen, RdRp en E, van het virus) aan te tonen.[1]

Tabel B1.1 Overzicht van de 33 geteste ziekteverwekkers in de multiplex PCR (Fast Track Diagnostics Ltd.)

Bacteriën	Virussen	Schimmel
Bordetella spp.	Enterovirus	*Pneumocystis jirovecii*
Chlamydia pneumoniae	Humaan adenovirus	
Haemophilus influenzae	Humaan bocavirus	
Haemophilus influenzae B	Humaan coronavirus 229E	
Klebsiella pneumoniae	Humaan coronavirus HKU1	
Legionella pneumophila	Humaan coronavirus NL63	
Moraxella catarrhalis	Humaan coronavirus OC43	
Mycoplasma pneumoniae	Humaan metapneumovirus A/B	
Salmonella spp	Humaan parainfluenzavirus type 1	
Staphylococcus aureus	Humaan parainfluenzavirus type 2	
Streptococcus pneumoniae	Humaan parainfluenzavirus type 3	
	Humaan parainfluenzavirus type 4	
	Humaan parechovirus	
	Humaan respiratory syncytial virus A/B	
	Humaan rhinovirus	
	Influenzavirus type A	
	Influenzavirus A(H1N1) pdm09	
	Influenzavirus type B	
	Influenzavirus type C	

Materiaal

Voor deze laboratoriumtechniek zijn zowel de keel- als neusswabs van alle deelnemende patiënten en geitenhouders gebruikt, als van een selectie van 200 controlepersonen. Deze 200 controlepersonen zijn geselecteerd op basis van verschillende woonafstanden tot geitenhouderijen.

Uitvoering PCR

De keelmonsters zijn verzameld in 1 ml Amies-medium en de neusmonsters in 3 ml UTM-medium. Van de keelmonsters en van de neusmonsters is 200 µl gebruikt voor totaal RNA/DNA-extractie met Roche MagNA Pure 96-apparaat en de Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit. Geëxtraheerd RNA/DNA in 50 µl TE buffer is 1:1 verdund met TE buffer, waarna 10 µl is gebruikt in elke van de 8 PCR-testen van de Fast Track assay en 5 µl is gebruikt in elk van de *Coxiella burnetii* en SARS-CoV-2 PCR-testen. De PCR-testen zijn uitgevoerd op Roche LightCycler 480-apparaat.

Uitslagen PCR

Voor ieder geteste verwekker geeft de PCR een uitslag van positief (verwekker wel aangetoond in monster) of negatief (verwekker niet aangetoond in monster). Deze uitslag is gebaseerd op evaluatie van de S-vormige exponentiële amplificatiecurve van de PCR. In het geval van een positieve uitslag geeft de PCR-techniek een cycle threshold (Ct)-waarde aan, wat het aantal amplificatie cycli aangeeft dat nodig is voordat de S-curve loskomt van het achtergrondsignaal. Het niveau van achtergrondsignaal wat door de Roche LightCycler automatisch wordt berekend, is in geval van deze studie per set monsters in één run geëvalueerd en handmatig ingesteld waar de vorm van de amplificatiecurves daarom vroeg. De Ct-waarde geeft een indicatie van de hoeveelheid erfelijk materiaal van de verwekker in het monster. Hoe lager de Ct-waarde (dus hoe minder cycli nodig zijn), hoe hoger de hoeveelheid erfelijk materiaal in het monster.

Woonafstand tot geitenhouderijen

Op basis van de coördinaten van het huisadres van de patiënten en de controlepersonen is de afstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij berekend. De informatie over de locatie van de geitenhouderijen (in 2021) is beschikbaar vanuit het Identificatie- en Registratiesysteem (I&R) dat door de Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO) wordt onderhouden. Op basis van de exacte coördinaten van het woonadres is de afstand in een rechte lijn (hemelsbreed) tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij berekend. Hierbij zijn geitenhouderijen meegenomen met minimaal 50 geiten. Alleen de woonafstand, en niet de individuele adreslocaties, is gekoppeld aan de uiteindelijke laboratoriumgegevens. Op basis van de woonafstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij zijn de personen ingedeeld in categorieën: woonafstand <2.000 meter en woonafstand >2.000 meter.

Statistische analyse

De PCR-data werden geanalyseerd met behulp van Rstudio (versie 4.4.0). In de statistische analyse stond de onderzoeksvraag centraal welke respiratoire ziekteverwekkers mogelijk een rol spelen bij patiënten met longontsteking rondom geitenhouderijen. Hierbij is er gekeken naar:

- De verschillen in aanwezigheid van de geteste ziekteverwekkers tussen de drie studiegroepen: patiënten, controlepersonen en geitenhouders.
- De verschillen in de aanwezigheid van de geteste ziekteverwekkers in relatie tot woonafstand tot de dichtstbijzijnde geitenhouderij. Hiervoor zijn de patiënten woonachtig <2.000 meter van een geitenhouderij vergeleken met patiënten woonachtig >2.000 meter van een geitenhouderij. Ook zijn deze twee groepen patiënten vergeleken met de groep geitenhouders die het hoogst zijn blootgesteld. Eenzelfde analyse is gedaan, waarbij de groep controlepersonen is ingedeeld op basis van woonafstand en deze zijn zowel onderling vergeleken als met de groep geitenhouders.

Voor deze analyses zijn de uitslagen van de keel- en neusswabs gecombineerd tot één resultaat per deelnemer per geteste verwekker. Dat wil zeggen dat een deelnemer een positieve uitslag voor een verwekker heeft, wanneer deze verwekker via PCR is aangetoond in de keelswab, de neusswab of in beide swabs. Bij een negatieve uitslag is de desbetreffende verwekker in zowel de keelswab als in de neusswab niet aangetoond met behulp van PCR. De Fisher exact-test is gebruikt om te bepalen of de verschillen tussen de drie studiegroepen statistisch significant waren (een p-waarde <0,05).

Literatuurlijst

1. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3):2000045.

Bijlage 2 - Methoden microbioom-gezondheidsmetingen

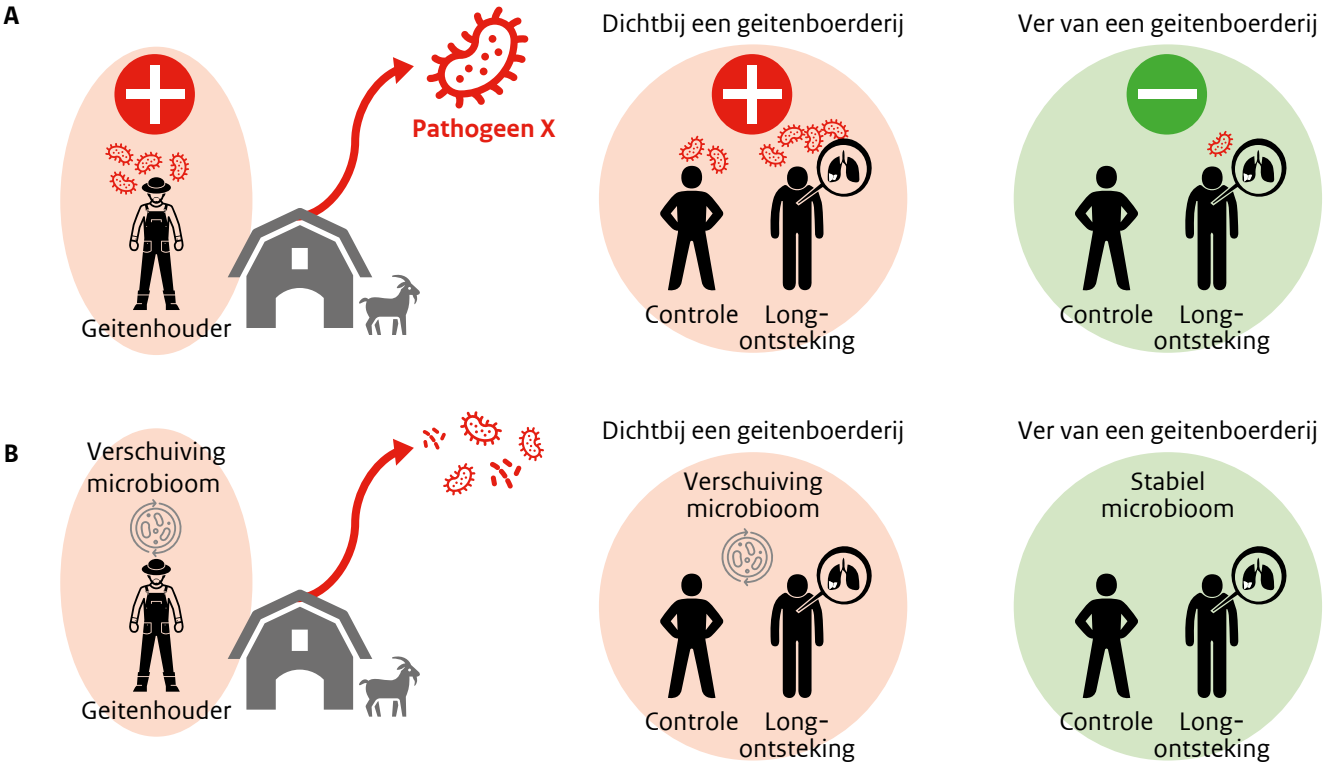
Behorende bij paragraaf 6.2.2.

Hypotheses voor de microbioom-analyse

We hebben twee primaire hypothesen geformuleerd voor de microbioom-analyse:

1. Specifieke ziekteverwekkers afkomstig van geitenhouderijen zouden longontsteking kunnen veroorzaken bij omwonenden. We verwachten dat deze ziekteverwekkers vaker zouden voorkomen bij patiënten met longontsteking en controlepersonen die dicht bij geitenhouderijen wonen, in vergelijking met mensen die verder weg wonen (Figuur B2.1a). Daarnaast verwachten we hogere niveaus van ziekteverwekkers bij geitenhouders vanwege hun frequente beroepsmatige blootstelling (Figuur B2.1a).
2. Emissies van geitenhouderijen zouden de lokale luchtkwaliteit kunnen verslechteren, wat een verstoring van het respiratoire microbioom bij omwonenden en boeren zou kunnen veroorzaken. Deze verstoring zou de vatbaarheid voor longontsteking kunnen vergroten (Figuur B2.1b).

Figuur B2.1 Illustratie van de twee belangrijkste hypothesen over de mogelijke impact van blootstelling aan geitenhouderijen op longontsteking bij omwonenden: A) geeft aan dat specifieke ziekteverwekkers van geitenhouderijen een directe oorzaak zouden kunnen zijn; en B) suggereert dat dysbiose een rol zou kunnen spelen



DNA-isolatie

DNA-isolatie is uitgevoerd volgens bestaande protocollen.[1] DNA is geëxtraheerd met de Agowa Mag DNA-extractiekit (LCG, genomics, Berlijn, Duitsland) met aanpassingen voor monsters met lage biomassa. In elke run werd een positieve en negatieve controle meegenomen. Monsters werden gemixt met 600 µl lysis buffer, zirkonium beads en 550 µl fenol in een 1,5ml buis met draaidop. Buizen werden tweemaal in een beadbeater geschud met een koelstap-op-ijs. Na 10 min centrifugeren werd de heldere vloeistof afgepipetteerd in een schone buis met 1,3 ml bindingsbuffer en 10 µl magnetische beads. Na 30 min schudden, werden de buizen in een magnetisch rek geplaatst, supernatant verwijderd en de beads gewassen met buffer 1 en 2. Vervolgens werden de buizen geopend en aan de lucht gedroogd bij 55°C. DNA werd geëlueerd in 35 of 50 µl elutiebuffer door 15 min te schudden bij 55°C, en vervolgens overgebracht in een LoBind-tube en bij -20°C bewaard.

16S-rRNA amplicon sequencing

De hypervariable regio 4 (V4) van het 16S rRNA gen werd geamplificeerd met behulp van PCR met de 515F/806R-primers, en Illumina-adapters en monster-specifieke barcodes.[2] PCR-reacties bestonden uit 25 µl volumes, waarvan 0,5 µl Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase, 5 µl 5× Phusion HF Buffer (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), 7 µl HPLC grade water (Instruchemie, Delfzijl, Nederlans), 2,5 µl 2 mM dNTP-mix (Roche, Mannheim, Duitsland), 5 µl 5 µM barcoded primers (515F en 806R), en 5 µl template DNA. Het PCR-protocol bestond uit een denaturatiestap bij 98°C voor 30 seconden, gevolgd door 30 cycli bij 98°C voor 10 seconden, 55°C voor 30 seconden, en 72°C voor 30 seconden, met een eind extensiestap bij 72°C voor 5 minuten. Monsters met een DNA-concentratie onder 20 pg/µl werden onverdund en met een hogere concentratie verdund getest. De amplicon-grootte werd gecontroleerd via agarosegel-elektroforese en gekwantificeerd met behulp van de Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, MA, VS). Gebarcodeerde amplicons werden in equimolaire verhoudingen gepoold en gezuiverd met behulp van 0,9× AMPure XP magnetische beads. Sequencing werd uitgevoerd met MiSeq-reagentkits v3 op een Illumina MiSeq-sequencer (Illumina Inc., San Diego, CA, VS). Positieve en negatieve controles werden opgenomen om de sequencing te controleren en om contaminatie te identificeren, waaronder DNA-isolatieblanco's, sequencingblanco's, Zymo mock-bacteriën en Zymo mock-DNA. Mock-communities werden gecontroleerd op afwijkende microbiële profielen.

Bacteriële DNA-kwantificering

Bacteriële dichtheid werd bepaald met een kwantitatieve PCR (qPCR) met behulp van het StepOnePlus Real-Time PCR Systeem (Thermo Fisher Scientific) met universele primers en een 16S rRNA gen gebaseerde probe. De primers en probe bestonden uit een 16S-F1 (forward), 16S-R1 (reverse), een 16S-P1 (probe) (IDT, Leuven, België).[3,4] Om reproduceerbare en betrouwbare vergelijkingen van de DNA-concentraties te verwezenlijken, werd een standaardcurve ontwikkeld, gebruikmakend van gesynthetiseerde 16S rRNA gen fragmenten (gBlocks Gene Fragment, IDT).

Bio-informaticaprocessing

Er werd gebruikgemaakt van een in-huis ontwikkelde DADA2 bio-informatica pijplijn, waarmee reads met gepaarde eindes werden verwerkt[5] (v1.16.0; maxEE = 2; truncLen = 200/150) om amplicon sequencevarianten (ASVs) af te leiden.[6] Chimeras werden aangetoond en verwijderd met de 'consensus' methode. Taxonomie werd toegewezen met de naïve Bayesian classificeerder met de Silva v138- referentiedatabase (August 2020).[7] De DADA2-output werd gecombineerd in een enkel object door gebruik te maken van de 'phyloseq' R package voor verdere analyse.[8]

Data pre-processing

Verschillende filterstappen werden toegepast om contaminatie en monsters van lage kwaliteit te verwijderen. 'Mitochondriën', 'Chloroplasten', 'Archaea', en 'Eukaryoten' werden sowieso verwijderd. ASVs met de laagste bekende taxonomische naam werden aangehouden. Potentiële ASV-contaminanten werden gedetecteerd, gebruikmakend van de 'decontam' R-package (version 1.10.0) (isContaminant()-function) en default parameters. Ook werden contaminanten handmatig geïdentificeerd in geval van een verschil in overmatig DNA van meer dan 1 procent in tenminste 2 DNA-isolatiecontroles en een onvoorzien verschil in overmaat tussen verschillende runs. Monsters met een DNA-concentratie lager dan 0,095 pg/µl of minder dan 10,000 reads werden uitgesloten, waarbij in totaal 2.179 (91,9%) bovenste luchtwegmonsters na data pre-processing overbleven.

Blootstellingskarakterisering

Blootstelling aan geitenbedrijven voor zowel de controle-groep als de groep van patiënten met longontsteking werd bepaald door de afstand van geitenbedrijven tot het woonadres te bepalen met geografische informatie over veehouderijen, afkomstig van RVO (2021). Deelnemers

werden ingedeeld in drie categorieën van blootstelling, bestaande uit de afstand van het dichtstbijzijnde geitenbedrijf tot het woonadres: <1.000 meter, 1.000 – 2.000 meter, >2.000 m. Voor de patiëntenpopulatie werden twee indelingen van de groepen gemaakt: <2.000 meter en >2.000 meter. Door het kleinere aantal deelnemers was een verdere categorisering niet mogelijk. Een geitenbedrijf werd gedefinieerd als een bedrijf met minimaal 50 geiten. Geitenhouders werden als groep apart gecategoriseerd als beroepsmatig blootgesteld aan geitenbedrijven. Andere deelnemers werden ingedeeld op basis van de ingevulde vragenlijst.

Statistische analyse

De data-analyse werd uitgevoerd met het statistische softwarepakket R (version 4.3.2). Statistische analyses werden uitgevoerd om de volgende onderzoeksvragen te beantwoorden: 1. Wat is de invloed van de drie onderzochte studiepopulaties (controlepersonen, geitenhouders en patiënten met een longontsteking) op de microbiële samenstelling? 2. Wat is de impact van blootstelling aan geitenbedrijven op de microbiële samenstelling van controlepersonen en patiënten met een longontsteking?

Voor elke onderzoeksvraag werden de alfa-diversiteit (de microbiële diversiteit binnen de monsters) en beta-diversiteit (microbiële diversiteit tussen de monsters) onderzocht. Clusteringmethoden werden gebruikt om potentiële clusters van microbiële samenstelling te identificeren, voor groepen met verschillende categorieën van blootstelling. Ook werden differentiële abundantie analyses uitgevoerd om micro-organismen te identificeren die in abundantie verschillen tussen de verschillende studiepopulaties. Voor alle analyses werden de keel- en neusswabs apart bestudeerd.

Alfa-diversiteit

Om de alfa-diversiteit te beoordelen, hebben we de read counts gerarificerd tot het minimumaantal reads (10.009) om verschillen in sequencing-depth tussen de monsters te normaliseren. Alfa-diversiteit werd berekend met behulp van twee veelgebruikte indices: waargenomen 'richness' (het aantal soorten per monster) en Shannon-diversiteit (die rekening houdt met zowel het aantal als de gelijkmatigheid van soorten per monster). Daarnaast werd de bacteriële dichtheid beoordeeld met behulp van qPCR-bacterietellingen. Associaties tussen alfa-diversiteit en persoonlijke kenmerken van deelnemers werden eerst onderzocht in univariabele lineaire modellen. Vervolgens werden multivariabele lineaire regressiemodellen toegepast om relevante variabelen (populatie en blootstelling aan geitenhouderijen) te onderzoeken, terwijl tegelijkertijd werd gecorrigeerd voor bekende verstorende factoren.

Bèta-diversiteit

Voor de bèta-diversiteitsanalyses werden ASV's met lage abundantie uit elk niche afzonderlijk gefilterd, zodat alleen ASV's met >0,1% relatieve abundantie in ten minste twee monsters behouden bleven.[9] De (dis) similariteit tussen monsters werd berekend met behulp van Bray-Curtis (BC) matrices uit het R-pakket *vegan*, en gevisualiseerd door middel van Principal Coordinate Analysis (PCoA). Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) werd gebruikt om de effecten van verschillende determinanten op de samenstelling van het microbioom te testen. PCoA-plots werden gebruikt om verschillen in microbiële samenstelling tussen de drie populaties te visualiseren, en verschillen tussen groepen met verschillende mate van blootstelling aan geitenhouderijen.

Cluster analyse

Met behulp van Bray-Curtis-afstandsmatrices werd een complete linkage hiërarchische clustering uitgevoerd om de microbiota in de keel- en neusswabs van de deelnemers te groeperen op basis van vergelijkbare microbiële profielen. Het optimale aantal clusters per niche werd bepaald met behulp van de Calinski-Harabasz- en Silhouette-indices. Mozaïekdiagrammen werden gebruikt om het clustertoebehoren tussen de vergelijkingen te visualiseren. Vanwege de kleine steekproefgrootte, werd de Fisher's exact-toets gebruikt om de associatie tussen cluster en zowel de studiepopulatie als blootstelling aan geitenhouderij te beoordelen. Fisher's exact-toetsen waarbij minder dan vier individuen in beide vergeleken groepen zaten, werden uitgesloten.

Differentiële abundantie-analyse

Differentiële abundantie-analyse werd uitgevoerd met behulp van MaAsLin2 (versie 1.16.0)[10] en ANCOM-BC2[11] om potentiële kenmerken te identificeren die geassocieerd zijn met de studiepopulatie of blootstelling aan geiten-houderijen. De analyse werd uitgevoerd op het ASV- en genusniveau voor de keel- en neusswabs afzonderlijk. Voorafgaand aan de analyse werden de data gefilterd, zoals eerder beschreven om laag-abundante ASV's per niche te verwijderen. Vervolgens werd verdere filtering toegepast om ASV's te behouden die een relatieve abundantiewaarde van 1 procent hebben in 10 procent van de monsters, om de focus te leggen op meer abundante taxa.

Integratie microbioom- en multiplexresultaten

Om de microbioom- en multiplexresultaten te integreren, hanteerden we twee strategieën:

1. We voerden chi-kwadraattoetsen uit om de correlatie te beoordelen tussen de aanwezigheid of afwezigheid van ASV's en de positieve of negatieve resultaten van de multiplexdata. ASV's werden als aanwezig beschouwd als ze meer dan drie reads in het monster hadden.
2. We gebruikten Spearman-correlatietesten om de correlatie te evalueren tussen de absolute abundanties van ASV's en de Ct-waarden uit de multiplexresultaten. De absolute abundantie werd bepaald door de relatieve abundantiewaarde te vermenigvuldigen met de bacteriële biomassa.

Integratie met de shortlist van bacteriën aangetroffen in luchtmonsters van geitenhouderijen

Er werd onderzocht of bacteriën die zijn aangetroffen in de luchtmonsters van geitenhouderijen (sequencing van de V5-V6-regio van het 16S rRNA-gen) ook werden aangetroffen in de keel- en neusswabs. Bacteriën met een prevalentie van meer dan 25 procent in de luchtmonsters werden opgenomen in een shortlist (zie paragraaf 7.3.3.2). Dat resulteerde in een lijst van 32 bacteriën om te detecteren in de humane keel- en neusswabs. Voor veel bacteriën in deze shortlist was informatie op soort-niveau (*species-level*) aanwezig. Echter, vanwege de beperkte soortniveau-resolutie in de sequencinggegevens van de keel- en neusswabs, richtten we ons aanvankelijk op de aanwezigheid of afwezigheid van verschillende bacteriële genera in de keel en neus. Om dit te kunnen doen, werd een lijst van ASV's (Amplicon Sequence Variants) samengesteld, die overeenkomen met elk genus. Elke ASV werd geclassificeerd als 'aanwezig' in een monster als het drie of meer reads had. Daarnaast werden ASV's uitgesloten van de analyse als ze in minder dan vijf monsters aanwezig waren. Vervolgens werden Fisher's Exacte-testen gebruikt om de aanwezigheid of afwezigheid van deze ASV's tussen verschillende studiepopulaties en blootstellingsniveaus te vergelijken. De resulterende p-waarden werden gecorrigeerd voor meervoudige testen met de Benjamini-Hochberg- (BH) correctie om te controleren voor de kans op foutpositieve bevindingen. Voor ASV-sequenties zonder soortniveau-identificatie voerden we een gedetailleerdere analyse uit van de sequentie met BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) tegen de NCBI 16S ribosomaal RNA-sequentiedatabase. We identificeerden de soort van de sequentie als diegene die door BLAST werd geïdentificeerd, mits voldaan werd aan twee criteria: een 100 procent identiteitsmatch met onze ASV-sequentie en ten minste 75 procent van de BLAST-hits die overeenkomen met die soort.

Literatuurlijst

1. Hasrat R, Kool J, De Steenhuijsen Piters WAA, et al. Benchmarking laboratory processes to characterise low-biomass respiratory microbiota. Scientific Reports. 2021;11(1):17148.
2. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011;108(supplement_1): 4516–4522.
3. Biesbroek G, Sanders EAM, Roeselers G, et al. Deep Sequencing Analyses of Low Density Microbial Communities: Working at the Boundary of Accurate Microbiota Detection. PLoS ONE. 2012;7(3): e32942.
4. Bogaert D, Keijser B, Huse S, et al. Variability and Diversity of Nasopharyngeal Microbiota in Children: A Metagenomic Analysis. PLoS ONE. 2011;6(2): e17035.
5. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. Nature Methods. 2016;13(7): 581–583.
6. De Steenhuijsen Piters WAA, Watson RL, De Koff EM, et al. Early-life viral infections are associated with disadvantageous immune and microbiota profiles and recurrent respiratory infections. Nature Microbiology. 2022;7(2): 224–237.
7. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. Nucleic Acids Research. 2012;41(D1): D590–D596.
8. McMurdie PJ, Holmes S. phyloseq: An R Package for Reproducible Interactive Analysis and Graphics of Microbiome Census Data. PLoS ONE. 2013;8(4): e61217.
9. Subramanian S, Huq S, Yatsunenko T, et al. Persistent gut microbiota immaturity in malnourished Bangladeshi children. Nature. 2014;510: 417–421.
10. Mallick H, Rahnavard A, McIver LJ, et al. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies. PLOS Computational Biology. 2021;17(11): e1009442.
11. Lin H, Peddada SD. Multigroup analysis of compositions of microbiomes with covariate adjustments and repeated measures. Nature Methods. 2024;21(1): 83–91.

Bijlage 3 - Resultaten PCR-gezondheidsmetingen

Behorende bij paragraaf 7.2.1.2

Tabel B3.1 Uitslagen PCR-testen per micro-organisme (alleen diegenen getoond die minstens één keer zijn gedetecteerd), weergegeven als aantal en percentage positief getest: vergelijking van de groepen patiënten woonachtig binnen 2.000 meter (<2 km) van een geitenbedrijf, patiënten woonachtig verder dan 2.000 meter (>2 km) van een geitenbedrijf en geitenhouders

Micro-organisme				P-waarde*		
	Patiënten <2 km N=67	Patiënten >2 km N=41	Geiten-houders N=91	Patiënten <2 km vs. Patiënten >2 km	Patiënten <2 km vs. Geiten-houders	Patiënten >2 km vs. Geiten-houders
Bacteriën						
Bordetella species	1 (1,5)	0	0	1,00	0,42	NVT
Haemophilus influenzae	35 (52,2)	17 (43,9)	40 (44,0)	0,32	0,34	0,85
Haemophilus influenzae B	0	1 (2,4)	0	0,38	NVT	0,31
Klebsiella pneumoniae	2 (3,0)	1 (2,4)	3 (3,3)	1,00	1,00	1,00
Moraxella catarrhalis	20 (29,9)	17 (41,5)	8 (8,8)	0,296	**0,0012**	**<0,0001**
Salmonella species	3 (4,5)	1 (2,4)	16 (17,6)	1,00	**0,013**	**0,022**
Staphylococcus aureus	21 (31,3)	8 (19,5)	45 (49,5)	0,2631	**0,0335**	**0,0011**
Streptococcus pneumoniae	19 (28,4)	19 (46,3)	20 (22,0)	0,065	0,456	**0,007**
Virussen						
Coronavirus 229E	0	0	2 (2,2)	NVT	0,51	1,00
Coronavirus HKU1	1 (1,5)	0	0	1,00	0,42	NA
Coronavirus OC43	1 (1,5)	0	2 (2,2)	1,00	1,00	1,00
Enterovirus	4 (6,0)	1 (2,4)	2 (2,2)	0,65	0,40	1,00
Humaan adenovirus	1 (1,5)	2 (4,9)	1 (1,1)	0,56	1,00	0,23
Humaan bocavirus	0	1 (2,4)	1 (1,1)	0,38	1,00	0,53
Humaan metapneumovirus A/B	11 (16,4)	2 (4,9)	0	0,125	**<0,0001**	0,095
Humaan para influenzavirus 1	1 (1,5)	0	0	1,00	0,42	NVT
Humaan para influenzavirus 3	4 (6,0)	2 (4,9)	0	1,00	**0,031**	0,095
Humaan para influenzavirus 4	1 (1,5)	2 (4,9)	0	0,556	0,424	0,095
Influenzavirus type A (subtype niet bekend)	2 (3,0)	0	1 (1,1)	0,52	0,57	1,00
Influenza A(H1N1)pdm09	2 (3,0)	1 (2,4)	0	1,00	0,18	0,31
Rhinovirus	10 (14,9)	7 (17,1)	10 (11,0)	0,79	0,48	0,40
RS-virus A/B	1 (1,5)	3 (7,3)	0	0,15	0,43	**0,03**
SARS-CoV-2	4 (6,0)	2 (4,9)	10 (11,0)	1,00	0,40	0,34

** Een p-waarde < 0,05 geeft aan dat er een statistisch significant verschil gevonden is tussen de groepen die vergeleken zijn.*

Tabel B3.2 Uitslagen PCR-testen per micro-organisme (alleen diegenen getoond die minstens één keer zijn gedetecteerd), weergegeven als aantal en percentage positief getest: vergelijking van de groepen controlepersonen woonachtig binnen 2.000 meter (<2 km) van een geitenbedrijf, controlepersonen woonachtig verder dan 2.000 meter (>2 km) van een geitenbedrijf en geitenhouders

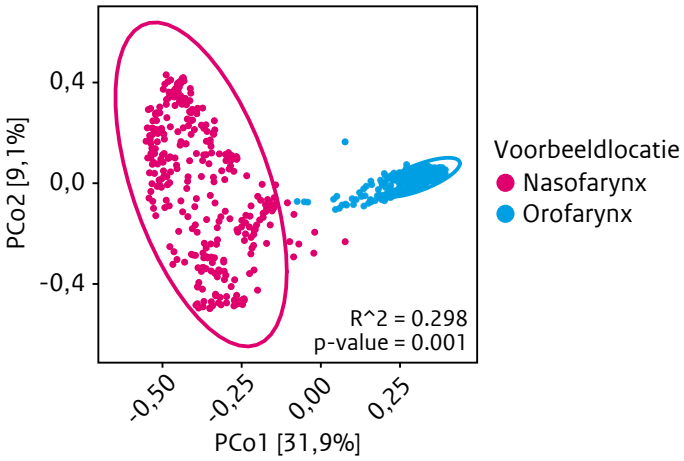
Micro-organisme				P-waarde*		
	Controle-personen <2 km N=84	Controle-personen >2 km N=116	Geiten-houders N=91	Controle-personen <2 km vs. Controle-personen >2 km	Controle-personen <2 km vs. Geiten-houders	Controle-personen >2 km vs. Geiten-houders
Bacteriën						
Bordetella species	1 (1,2)	4 (3,4)	0	0,40	0,48	0,13
Haemophilus influenzae	24 (28,6)	26 (22,4)	39 (43,8)	0,3268	**0,0412**	**0,0014**
Klebsiella pneumoniae	0	1 (0,9)	3 (3,3)	1,00	0,25	0,32
Moraxella catarrhalis	8 (9,5)	16 (13,8)	8 (8,8)	0,39	1,00	0,28
Salmonella species	0	0	16 (17,6)	NVT	**<0,0001**	**<0,0001**
Staphylococcus aureus	28 (33,3)	35 (30,2)	45 (49,5)	0,647	0,033	**0,0062**
Streptococcus pneumoniae	15 (17,9)	25 (21,6)	20 (22,0)	0,59	0,57	1,00
Virussen						
Coronavirus 229E	0	1 (0,9)	2 (2,2)	1,00	0,50	0,58
Coronavirus HKU1	1 (1,2)	1 (0,9)	0	1,00	0,48	1,00
Coronavirus OC43	0	2 (1,7)	2 (2,2)	0,51	0,50	1,00
Enterovirus	0	1 (0,9)	2 (2,2)	1,00	0,50	0,58
Humaan adenovirus	1 (1,2)	1 (0,9)	1 (1,1)	1,00	1,00	1,00
Humaan bocavirus	1 (1,2)	1 (0,9)	1 (1,1)	1,00	1,00	1,00
Influenzavirus type A (subtype niet bekend)	1 (1,2)	0	1 (1,1)	0,42	1,00	0,42
Influenzavirus type C	0	1 (0,9)	0	1,00	NVT	1,00
Rhinovirus	5 (6,0)	6 (5,2)	10 (11,0)	1,00	0,29	0,19
SARS-CoV-2	5 (6,0)	12 (10,3)	10 (11,0)	0,31	0,29	1,0000
Schimmel						
Pneumocystis jirovecii	1 (1,2)	0	0	0,42	0,48	NVT

** Een p-waarde < 0,05 geeft aan dat er een statistisch significant verschil gevonden is tussen de groepen die vergeleken zijn.*

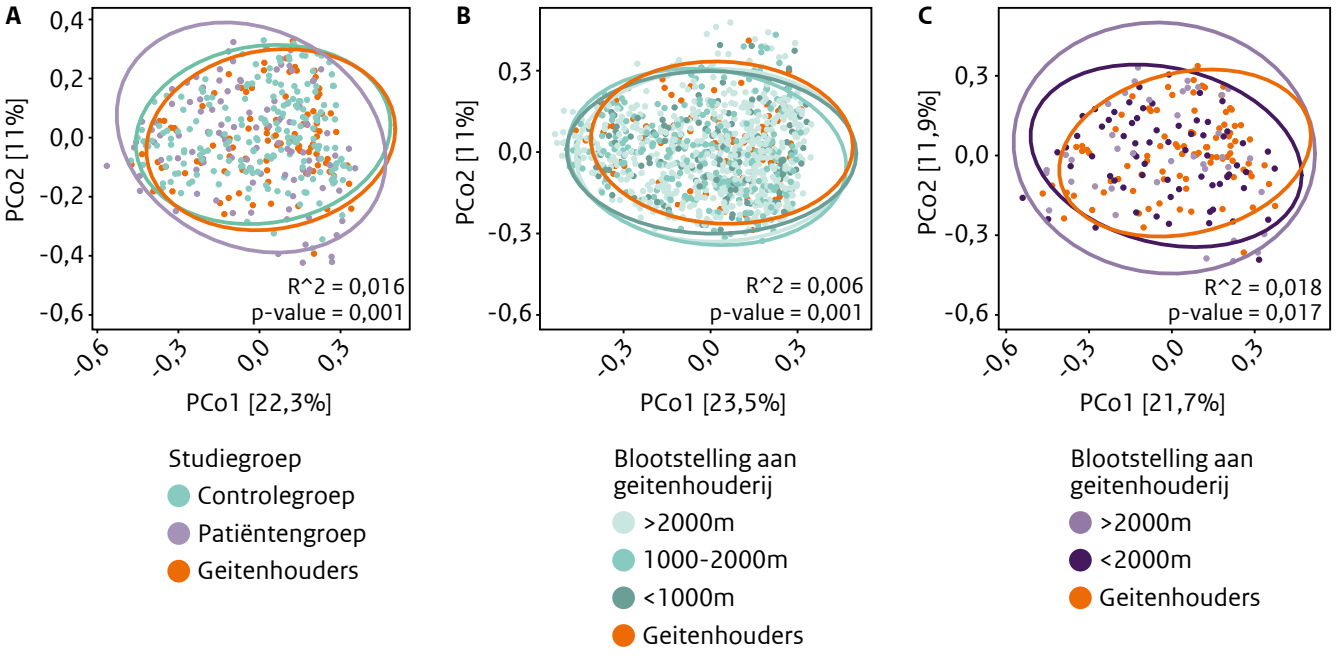
Bijlage 4 - Resultaten microbioom-analyse gezondheidsmetingen

Behorende bij paragraaf 7.2.2.2 en 7.2.2.3

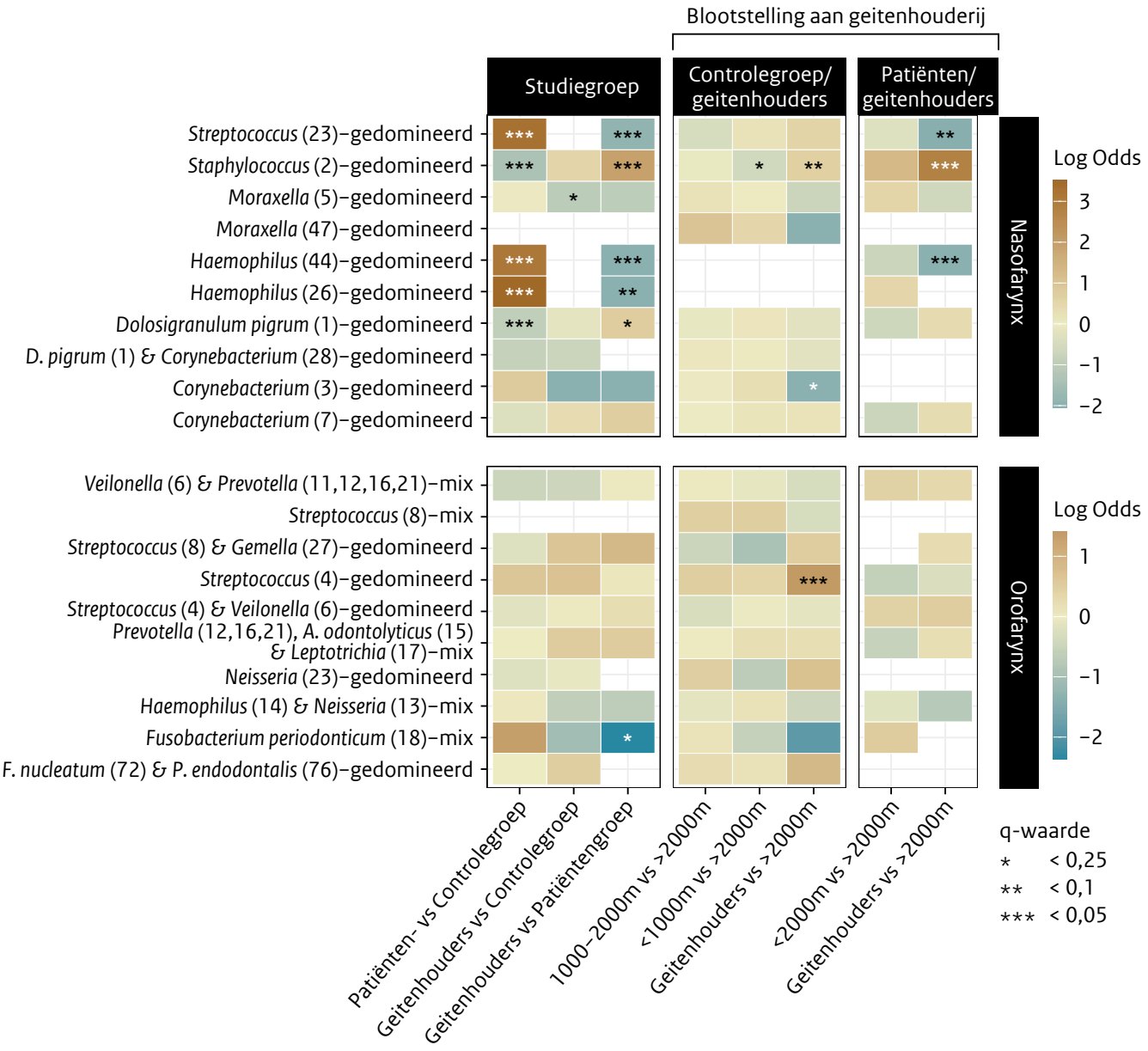
Figuur B4.1 Principale coördinatenanalyse (PCoA), gebaseerd op Bray-Curtis-dissimilariteiten van alle monsters, de kleuren verwijzen naar de monsternamelocatie: neus (nasofarynx) en keel (orofarynx)



Figuur B4.2 Principale coördinatenanalyse (PCoA), gebaseerd op Bray-Curtis-dissimilariteiten van (a) alle keelmonsters, met verschillende kleuren per studiegroep en (b) blootstelling aan geitenhouderijen voor controlepersonen en geitenhouders en (c) voor patiënten en geitenhouders. De door de eerste twee principale coördinaten verklaarde variantie wordt weergegeven als percentage tussen haakjes.



Figuur B4.3 Clusteranalyse van het microbioom van de neus (nasofarynx) en keel- (orofarynx) monsters over de verschillende studiegroepen en groepen van blootstelling aan geitenhouderijen. De clusters vertegenwoordigen deelnemers met een vergelijkbaar microbieel profiel. De benaming van de clusters (linkerkant) is gebaseerd op de meest dominante bacteriën binnen het cluster. De kleur geeft een hogere (bruin) of lagere (blauw) abundantie van dat cluster aan. Sterretjes vertegenwoordigen significantieniveaus.



Bijlage 5 - Microbiële resultaten geitenbedrijvenstudie

Behorende bij paragraaf 7.3.3

Prevalentie bacteriële en schimmel ziekteverwekkers per multiplex-regio

De gebruikte barcoding deep-sequencing-techniek is een multiplex 16S-barcoding-methodiek waarbij verschillende stukken (regio's) van soort-geassocieerde markergenen tegelijk worden bepaald. In meer detail: dit betreft de hyper-variabele regio's v5v6, aangevuld met de regio's v1v3, v3v4 en v6v9. De meeste pathogenen werden via regio v5v6 al geïdentificeerd. Een tweetal via v6v9 en nog een extra via v1v3. Alle via de amplicon-methode geïdentificeerde bacteriën konden op genoomniveau via metagenomisch shot-gun sequencing worden bevestigd.

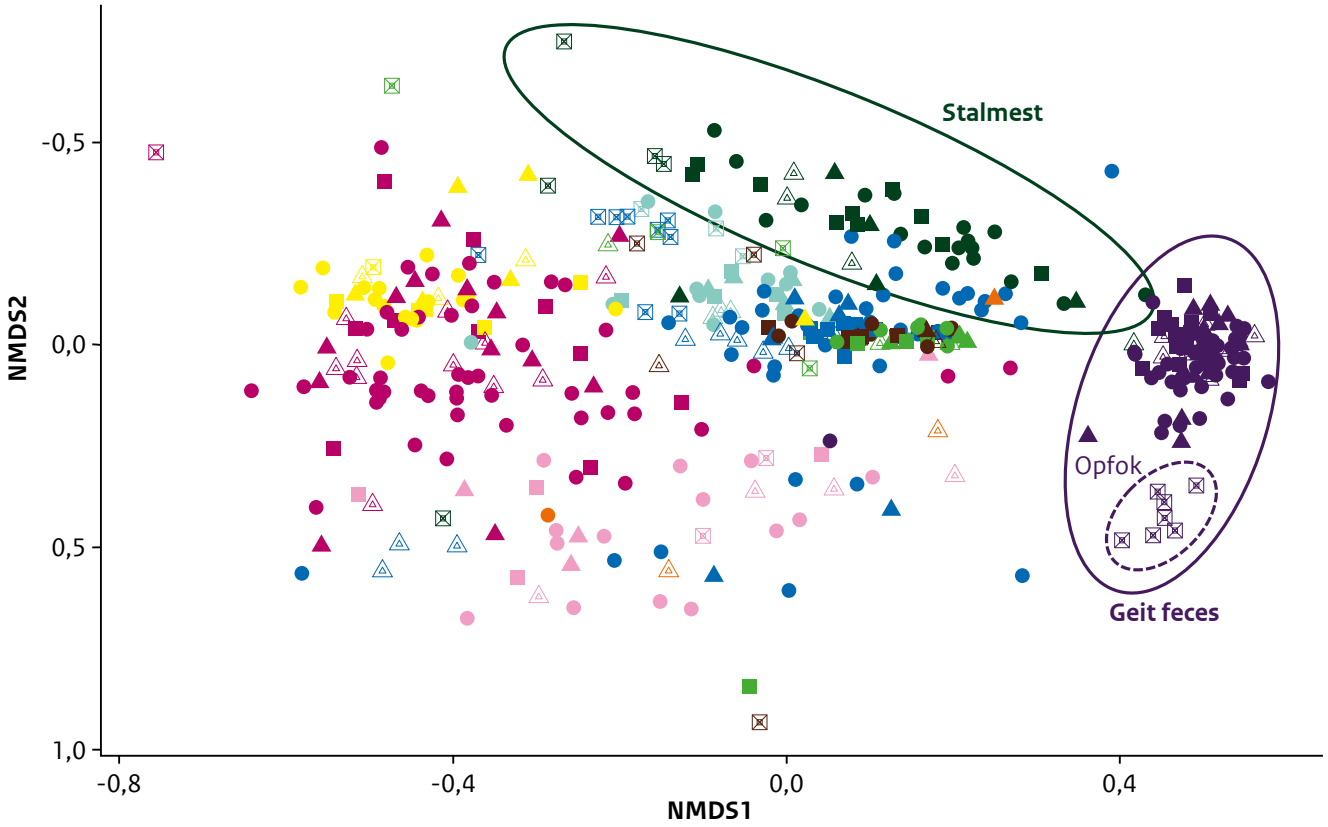
Tabel B5.1 Bedrijfsprevalentie van ziekteverwekkers per sequencing-methode

		Prevalentie Bedrijf - LUCHTmonsters - 16 bedrijven													
		AMPLICON												Shotgun MG seq	
	Literatuurstudie	Prevalentie (max)		Prevalentie v5v6		Prevalentie v1v3		Prevalentie v3v4		Prevalentie v6v9		Prevalentie ITS		Prevalentie	
Ziekteverwekker	Soort/Genus	>3	>10	>3	>10	>3	>10	>3	>10	>3	>10	>2	>10	>20	>200
Staphylococcus lugdunensis	Soort	1,000	1,000	1,000	1,000	-	-	-	-	0,875	0,875	0,875	0,875	0,800	0,067
Stenotrophomonas maltophilia	Soort	1,000	1,000	1,000	1,000	0,063	0,063	0,063	0,000	0,688	0,375	0,688	0,375	1,000	0,867
Staphylococcus aureus	Soort	1,000	0,875	1,000	0,875	0,063	0,000	0,063	0,000	0,125	0,125	0,125	0,125	1,000	1,000
Enterococcus hirae	Soort	1,000	0,625	1,000	0,625	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,867
Moraxella [Genus]	Genus	1,000	0,563	1,000	0,563	-	-	-	-	0,188	0,188	0,188	0,188	1,000	0,800
Streptococcus pluranimalium	Soort	1,000	0,188	1,000	0,188	0,063	0,000	0,063	0,000	0,063	0,063	0,063	0,063	1,000	0,533
Paeniclostridium sordellii	Soort	0,938	0,750	0,938	0,750	0,063	0,000	0,063	0,000	0,250	0,000	0,250	0,000	0,867	0,133
Staphylococcus lentus	Soort	0,875	0,813	-	-	0,875	0,813	0,813	0,750	0,688	0,625	0,688	0,625	1,000	1,000
Pseudomonas putida	Soort	0,875	0,375	0,875	0,375	0,625	0,313	-	-	-	-	-	-	1,000	0,467
Staphylococcus cohnii	Soort	0,813	0,563	0,813	0,500	0,688	0,563	-	-	0,313	0,125	0,313	0,125	1,000	1,000
Acinetobacter lwoffii	Soort	0,813	0,375	0,813	0,375	0,188	0,125	0,313	0,188	0,375	0,125	0,375	0,125	1,000	0,733
Lactococcus lactis	Soort	0,813	0,313	0,813	0,313	0,125	0,063	0,063	0,063	0,125	0,125	0,125	0,125	1,000	0,533
Trueperella pyogenes	Soort	0,750	0,625	0,750	0,625	0,313	0,125	0,250	0,188	0,375	0,375	0,375	0,375	1,000	0,933
Fusobacterium necrophorum	Soort	0,750	0,438	0,750	0,438	0,250	0,250	0,250	0,063	0,438	0,375	0,438	0,375	1,000	0,667
Mycobacterium [Genus]	Genus	0,750	0,375	0,750	0,375	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,667
Aspergillus intermedius	Genus	0,688	0,438	-	-	-	-	-	-	-	-	0,688	0,438		
Staphylococcus saprophyticus	Soort	0,688	0,313	-	-	0,688	0,313	-	-	-	-	-	-	1,000	0,933
Mycobacterium vaccae	Genus	0,688	0,125	0,688	0,063	-	-	-	-	0,125	0,125	0,125	0,125	-	-
Aspergillus ruber	Genus	0,625	0,250	-	-	-	-	-	-	,	,	0,625	0,250		
Clostridium sensu stricto 1 perfringens	Soort	0,625	0,188	0,625	0,188	-	-	-	-	0,188	0,125	0,188	0,125	1,000	0,200
Actinomyces [Genus]	Genus	0,625	0,125	0,625	0,125	-	-	-	-	0,063	0,000	0,063	0,000	1,000	0,933
Micrococcus [Genus]	Genus	0,625	0,125	0,625	0,125	-	-	-	-	0,125	0,063	0,125	0,063	1,000	1,000
Nocardia [Genus]	Genus	0,625	0,000	0,625	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	0,933	0,400
Streptococcus dysgalactiae	Soort	0,563	0,500	0,563	0,500	0,125	0,125	0,125	0,063	0,125	0,063	0,125	0,063	0,733	0,400
Aspergillus [Genus]	Genus	0,500	0,375	-	-	-	-	-	-	-	-	0,500	0,375		
Actinomyces slackii	Genus	0,500	0,125	0,500	0,125	-	-	-	-	0,125	0,063	0,125	0,063	1,000	0,733
Micrococcus luteus	Soort	0,375	0,250	0,375	0,250	-	-	-	-	0,063	0,063	0,063	0,063	1,000	0,667
Aspergillus fumigatus	Genus	0,375	0,188	-	-	-	-	-	-	-	-	0,375	0,188		
Streptococcus uberis	Soort	0,313	0,188	0,313	0,188	0,188	0,063	0,063	0,063	0,250	0,188	0,250	0,188	0,667	0,333
Acinetobacter baumannii	Soort	0,313	0,063	0,313	0,063	-	-	-	-	-	-	-	-	1,000	0,400
Klebsiella pneumoniae	Soort	0,313	0,063	0,313	0,000	-	-	0,250	0,063	-	-	-	-	0,800	0,200
Proteus mirabilis	Soort	0,313	0,063	0,313	0,063	-	-	-	-	-	-	-	-	0,800	0,200
Providencia stuartii	Soort	0,250	0,125	0,250	0,125	-	-	-	-	-	-	-	-	0,533	0,000
Pasteurella multocida	Soort	0,250	0,063	0,250	0,063	-	-	-	-	0,125	0,063	0,125	0,063	0,400	0,000
Proteus vulgaris	Soort	0,250	0,000	0,250	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	0,467	0,067

1 Aanwezige bacteriën zijn bepaald via de 16S-rRNA gen-amplicons over respectievelijk de v5-v6, v1-v3, v3-v4, v6-v9 hypervariabele regio's.
2 De verschillende sequentiediepte afkapwaarden (3 of 10) voor bepaling of een bedrijf positief is of niet.
3 Geel gearceerde ziekteverwekkers zijn de schimmels die via de ITS-sequencing-methode zijn bepaald.
4 De literatuurstudie categorie geeft aan op welk taxonomisch niveau een genus of soort op de lijst met ziekteverwekkers uit de literatuurstudie is gekomen. In blauwe arcering de ziekteverwekker categorie die niet via de standaard 16S-v5v6-methodiek is bepaald.

Microbioom diversiteit verschillende matrices

Figuur B5.1 Multidimensionale plot van de onderlinge verschillen in samenstelling van het microbioom per monster (volgens het Bray-Curtis-NMDS- model). Ieder symbool in de plot is een individueel monster, behorend bij een bepaald monstertype en staltype. De feces- en stalmestmonsters zijn met ovalen weergegeven.



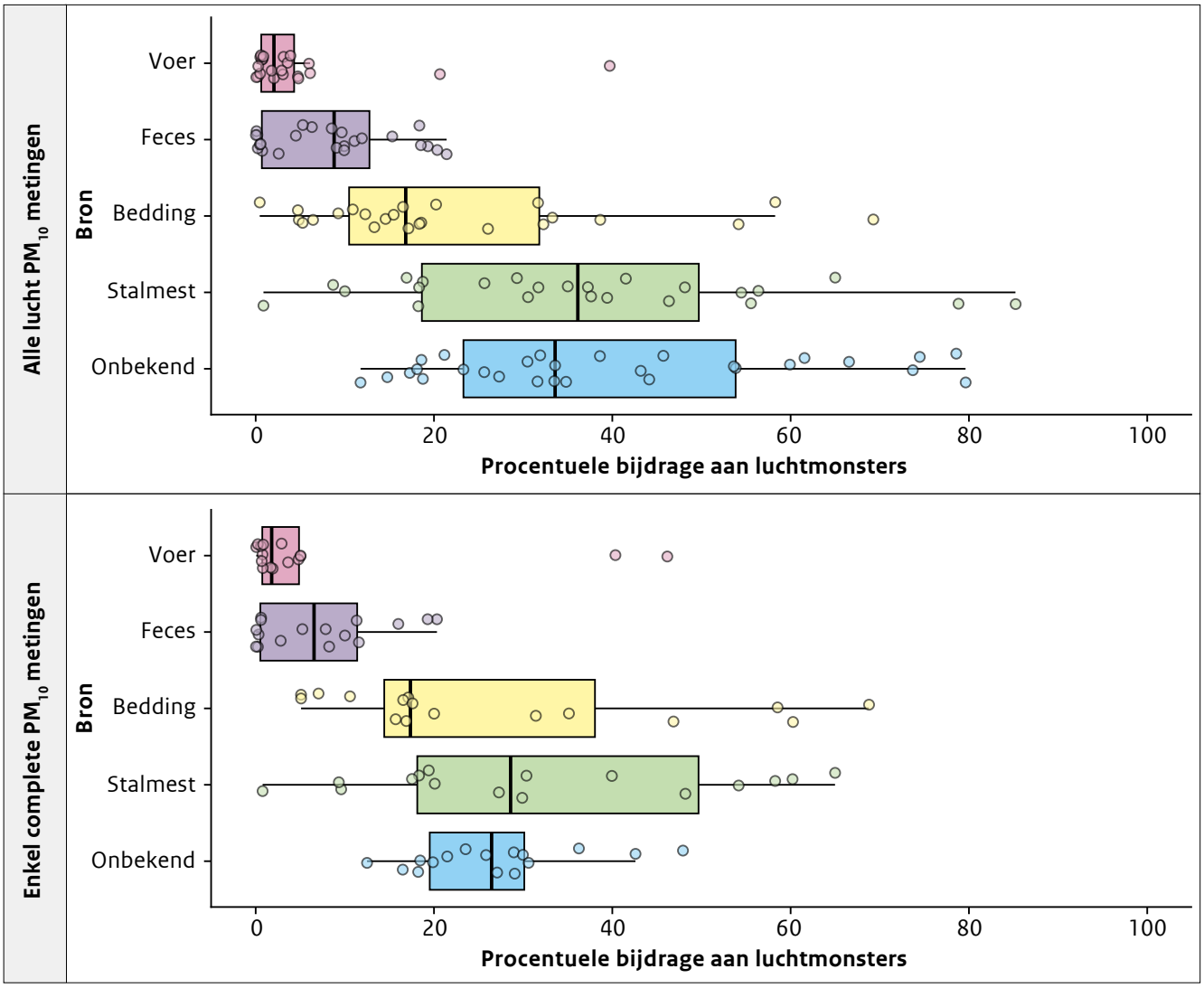
Monstertype
- Bedding
- Voer
- Stof PM_{100}
- Stof PM_{10}
- Stof EDC
- Geit neus
- Geit feces
- Water trog
- Stalmest
- Afvalwater

Staltype
- Hoofdstal
- Hoofdstal + aflammen
- Hoofdstal + uitmesten
- Aflamstal
- Opfokstal

Conclusie
Naast de groepering voornamelijk op monstertype, is met name in feces en stalmest een duidelijk verschil in samenstelling waarneembaar voor de opfokstal in contrast tot de andere staltypen. Dit kan mogelijk verklaard worden doordat tijdens de opfok de lammeren een sterke groei doormaken, waarbij bekend is dat het darmmicrobioom zich via voedselafhankelijke tussenstadia ontwikkelt naar het uiteindelijk volwassen darmmicrobioom.

Bronattributie sensitiviteitsanalyse incomplete meetmomenten

Figuur B5.2 Bronattributieanalyses van verschillende microbiële bronnen op de microbioomsamenstelling van luchtmonsters. Boven: alle monsters behorend bij PM_{10} luchtmonsters; onder: het effect van excluderen incomplete meetmomenten (ontbreken van één of meerdere bronsamples per PM_{10}-meting).



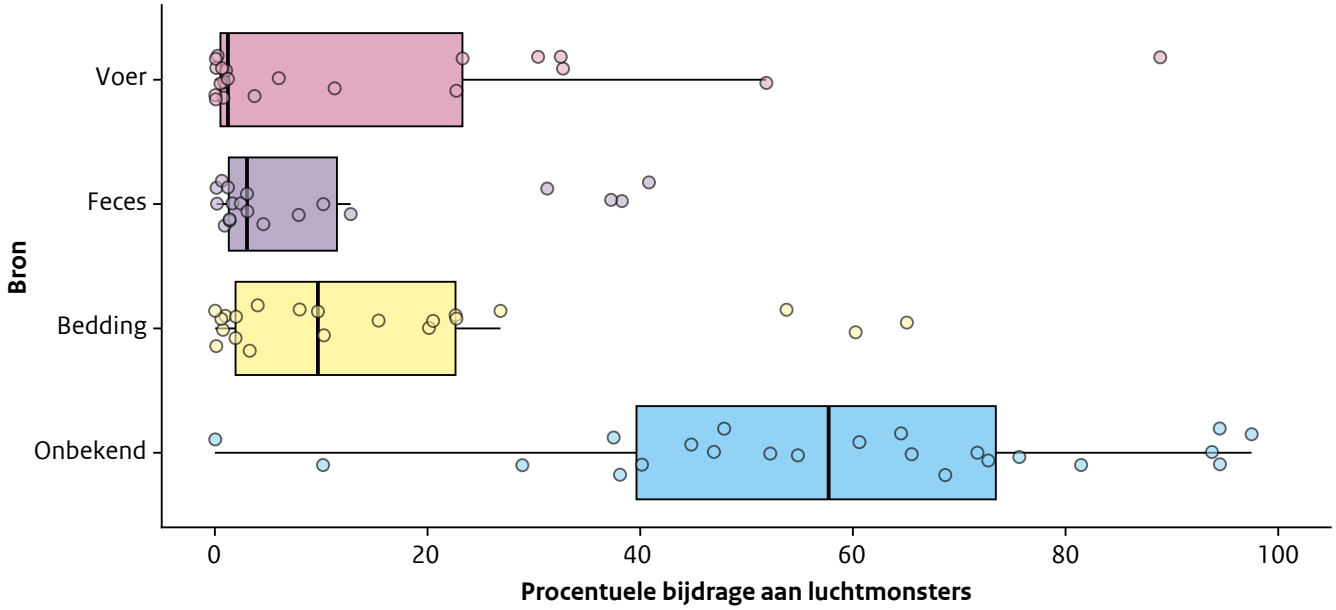
Conclusie

De bronattributie-analyses van enkel PM_{10}-monsters (in plaats van PM_{10} gecombineerd met PM_{100} en EDC) of het compleet verwijderen van monster-incomplete meetmomenten (eenheid bedrijfsbezoek), heeft enkel invloed op de spreiding in de bepaalde bronattributie percentages, maar niet significant op de mediaan.

Stalmest bronattributie

In de eerdere bron-attributieserie is geanalyseerd wat de relatieve bijdrage van mogelijke bronnen, zoals voer, bedding en feces, is aan de totale microbiële luchtcomponent (PM_{10}, PM_{100} en EDC). Stalmest kan echter op zichzelf ook worden gezien als een samenstelling van voer, bedding en feces, en deze bronattributie staat weergegeven in Figuur B5.3A.

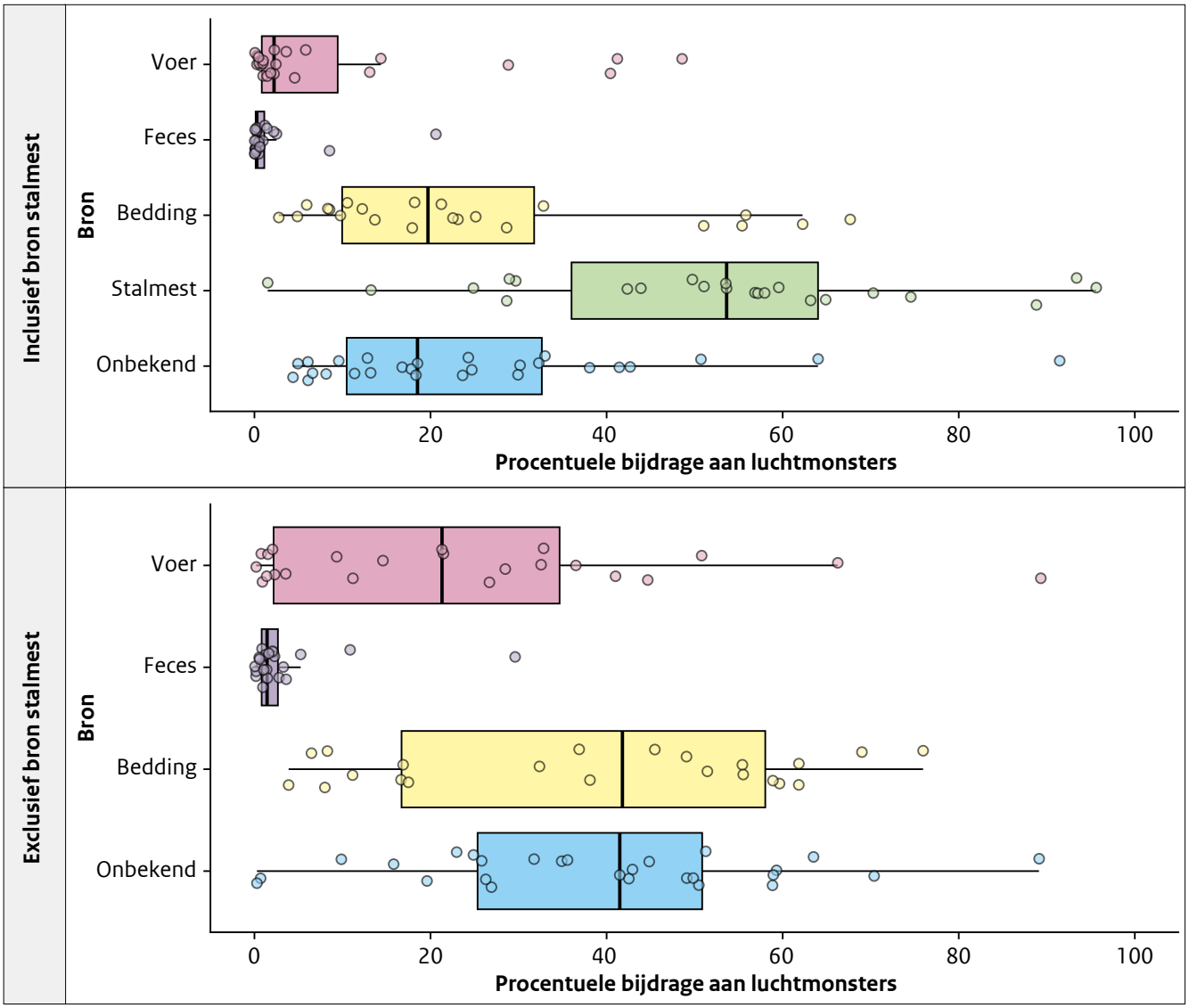
Figuur B5.3A Bronattributie van de verschillende bronnen aan de microbiële samenstelling in stalmest



Conclusie
Stalmest heeft zoals verwacht een grote bijdrage uit voer, feces en bedding, maar vergelijkbaar met lucht is er nog steeds een grote onbekende bron.

Omdat de stalmest mogelijk ook gezien kan worden als een samenstelling van de in Figuur B5.3A aangegeven componenten, is ook de bronattributie bekeken naar complete meetmomenten van stof (EDC) en wat de invloed is van de stalmest-component op de berekende attributie van de overige componenten (Figuur B5.3B).

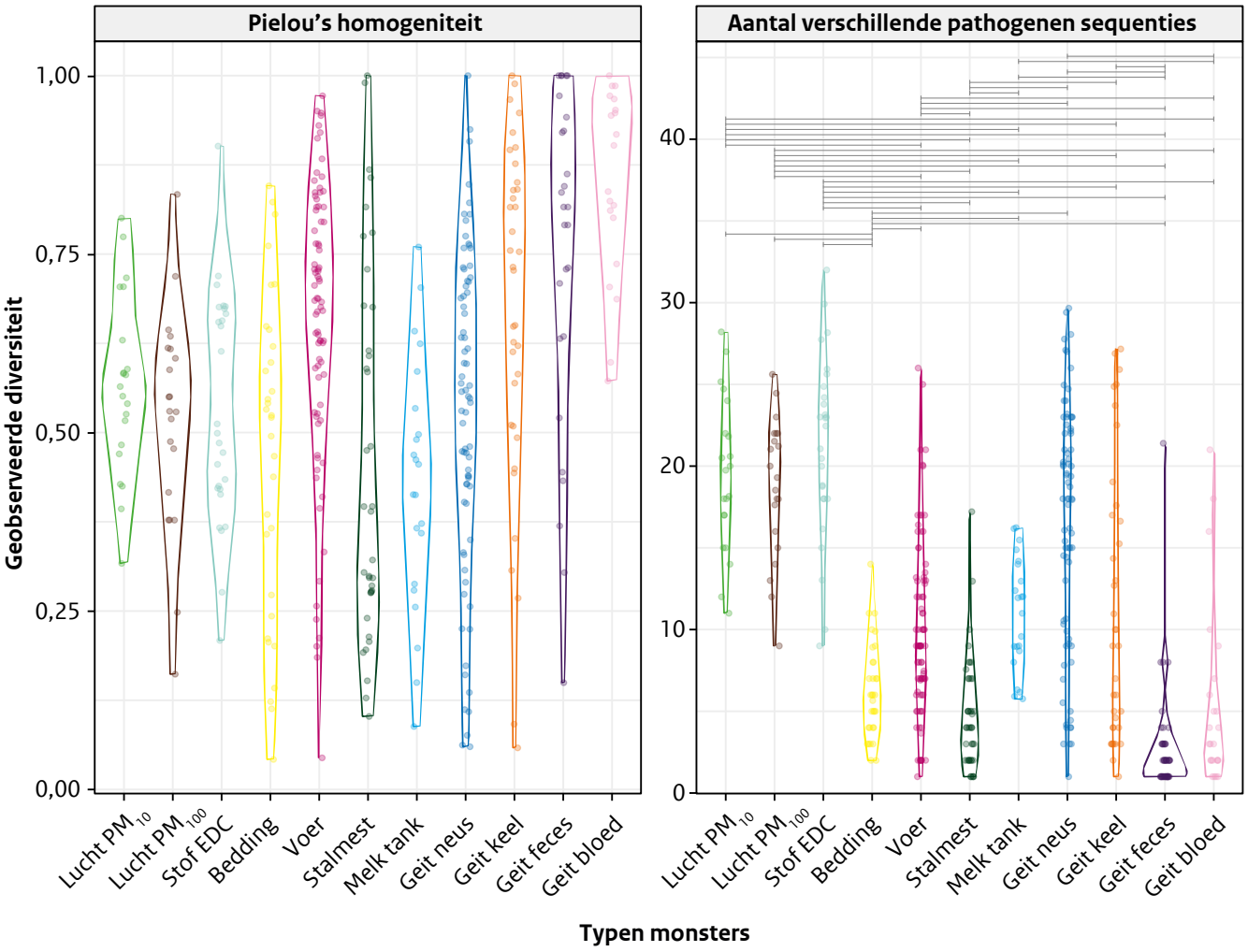
Figuur B5.3B Bronattributie aan EDC-luchtbemonsteringen met of zonder de potentiële verzamelbron stalmest



Conclusie
De bronattributie van stalmest omvat een vergelijkbare bijdrage aan lucht als dat de losse componenten van de stalmest (Figuur B5.3A) zouden doen. Toevoeging van stalmest neemt een evenredige bijdrage van de andere losse componenten weg, maar laat deze niet-significant verschuiven.

Microbiële diversiteit binnen de bedrijfsgebonden monsters

Figuur B5.4 Alfadiversiteit van de ziekteverwekkers op de lijst uit de literatuurstudie, binnen de verschillende monstercategorieën. Pielou's index geeft de homogeniteit van de gevonden ziekteverwekkers weer, terwijl het rechterpaneel de getelde verschillende ziekteverwekkers weergeeft. Paarsgewijze significante verschillen (P<0.001) zijn weergegeven in het rechterpaneel in het grijs.

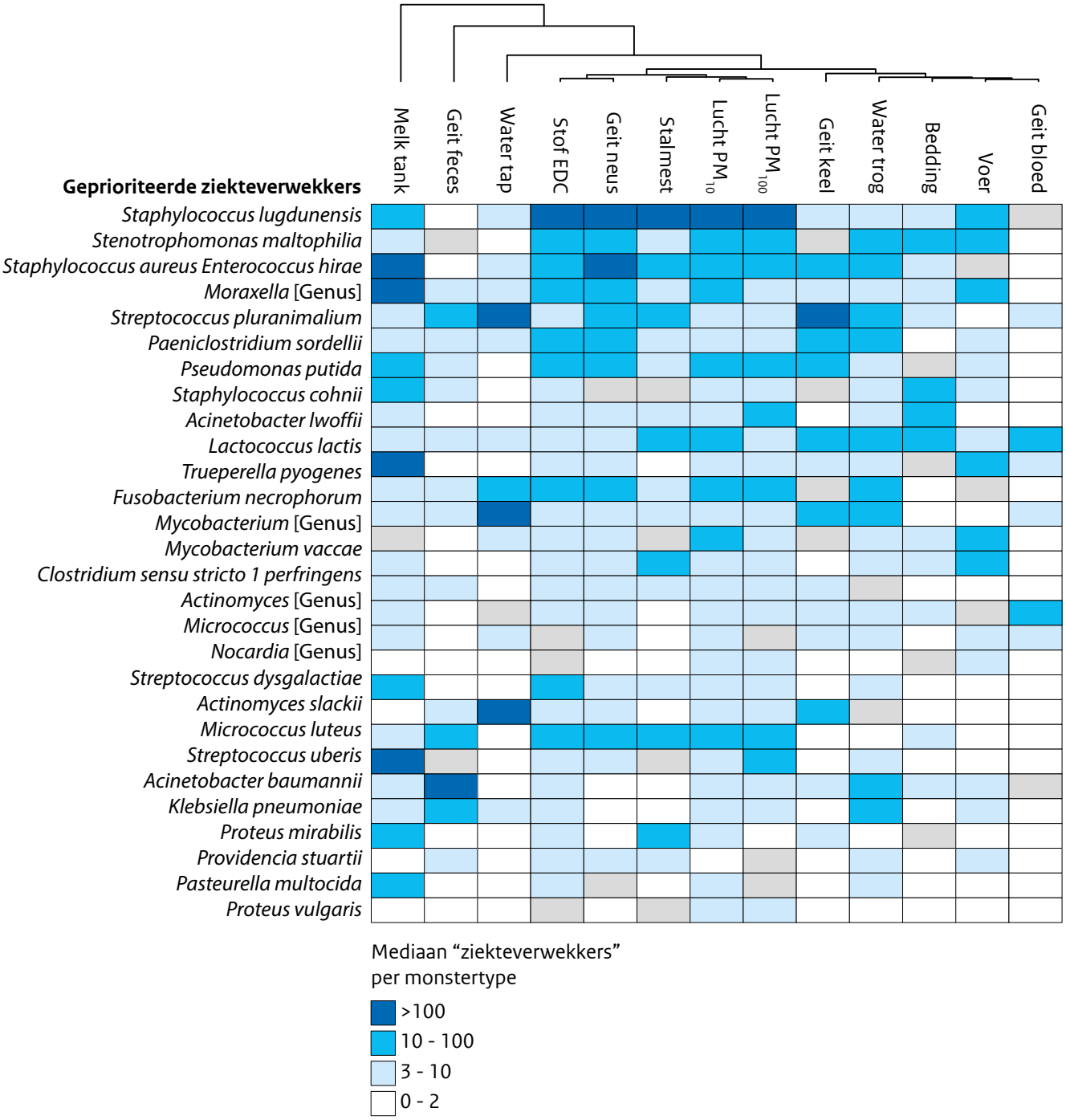


Conclusie

Er zijn nagenoeg geen verschillen in de homogeniteit van de *ziekteverwekkers* op de lijst uit de literatuurstudie (Pielou's), maar er zijn wel significante verschillen in de hoeveelheid verschillende *ziekteverwekkers* (op taxonomisch soort-niveau) gevonden per matrix type.

Distributie van de ziekteverwekkers over verschillende typen bedrijfsgebonden monsters

Figuur B5.5 Voorkomen van de verschillende geprioriteerde ziekteverwekkers in de verschillende monstertypes genomen op de zestien geitenbedrijven. De ziekteverwekkers zijn wederom gesorteerd op bedrijfsprevalentie (hoog-prevalent naar laag-prevalent). De monstertypes zijn geclusterd op basis van de medianen ziekteverwekkers per monstertype.



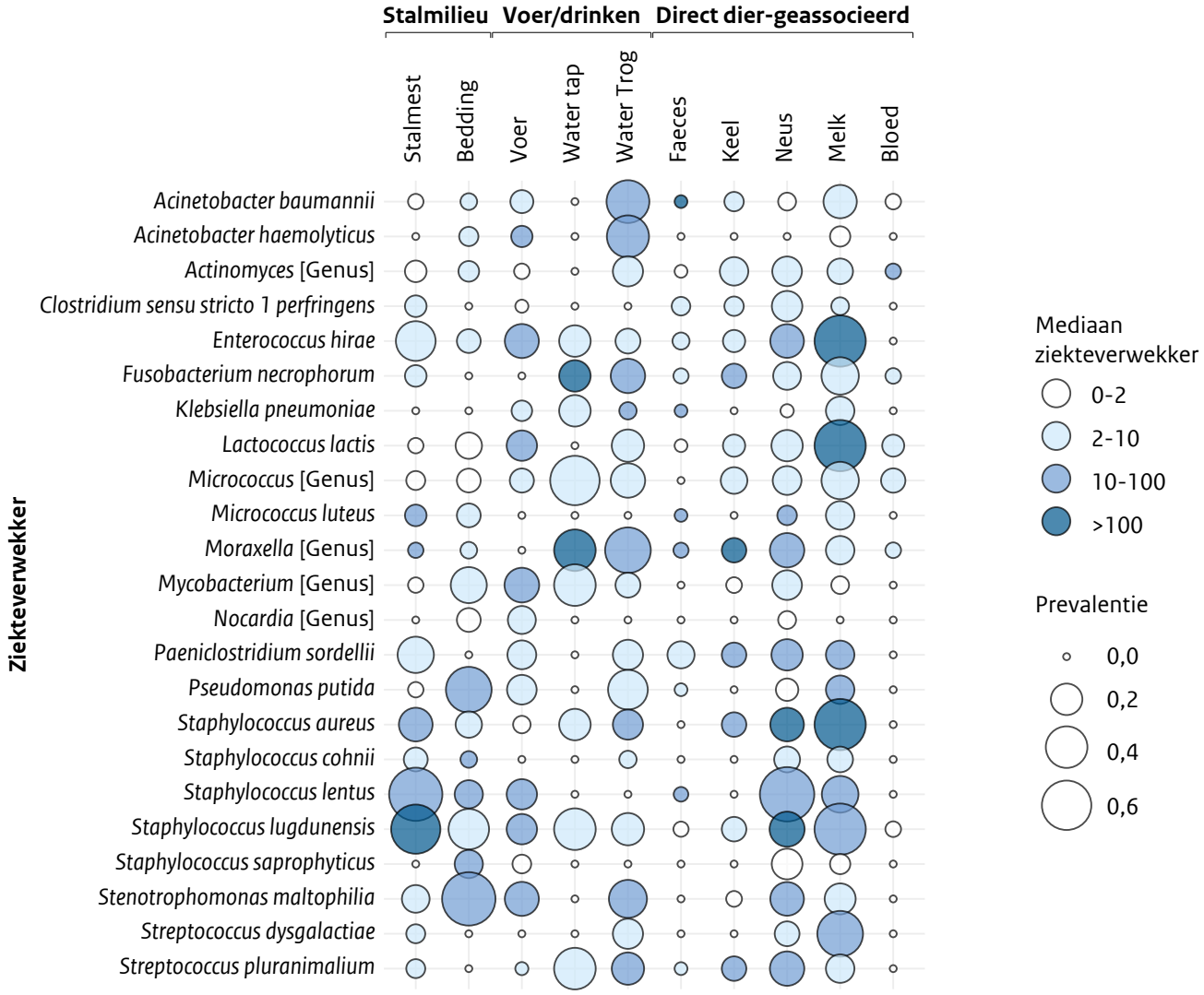
Conclusie

De in stallucht gevonden en geprioriteerde ziekteverwekkers (Figuur 7.13) komen ook in een veelvoud van monstertypes voor. De clustering van de monstertypes, weergegeven bovenaan Figuur B5.5, is enerzijds vergelijkbaar met de relatieve bronattributie van deze monstertypes (Figuur 7.14). Anderzijds sluit deze goed aan bij de verschillen in complete microbioomsamenstelling, zoals gevisualiseerd in Figuur B5.1.

Bijlage 6 - Discussie

Behorende bij hoofdstuk 8

Figuur B6.1 Bronattributie van geprioriteerde lijst van 23 bacteriën. De lijst komt voort uit Tabel 8.1. Monstertypen zijn geclusterd op bron stalmilieu, voer/drinken en direct dier-gerelateerd, waarbij per bacterie/ziekteverwekker per monstertype de mediaan van de getelde sequenties afkomstig uit de ziekteverwekkers (~ aantallen ziekteverwekkers) semi-kwantitatief wordt weergegeven op een kleurenschaal lopend van negatief/ruis (wit) tot sterk aanwezig (donkerblauw). De prevalentie (dat wil zeggen het percentage positieve monsters per monstertype) wordt weergegeven door de cirkelgrootte.



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

Universiteit Utrecht

WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH

nivel

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven
www.rivm.nl

december 2024

De zorg voor morgen
begint vandaag

015957