

Verkenning naar de aanwezigheid van resistente *Aspergillus fumigatus* in de land- en tuinbouwketen

Verkenning naar de aanwezigheid van resistente *Aspergillus fumigatus* in de land- en tuinbouwketen

Auteurs:

Foto's kaft: Links: Rotte uienhoop (CLM)
Rechts: *Aspergillus fumigatus* (Jos Houbroken, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute)

Opdrachtgever: Rijksdienst voor Ondernemend Nederland (RVO)

© CLM, publicatienummer 1067, juni 2021

CLM Onderzoek en Advies

Postbus:

Postbus 62
4100 AB Culemborg

Bezoekadres:

Gutenbergweg 1
4104 BA Culemborg

T 0345 470 700
www.clm.nl

Inhoud

Voorwoord	4
Samenvatting	5
Summary	9
1 Inleiding	13
1.1 Aanleiding onderzoek	13
1.2 Achtergrond	13
1.3 Doel onderzoek	14
2 Eerder uitgevoerd onderzoek	15
2.1 <i>Aspergillus fumigatus</i>	15
2.2 Resistentie-ontwikkeling van <i>A. fumigatus</i> in afval van bollen, groen en hout	15
2.3 Resistentie-ontwikkeling van <i>A. fumigatus</i> in de afvalketen van akkerbouwgewassen en vollegrondsgroenten	16
3 Werkwijze	17
3.1 Meetplan en werving bemonsteringslocaties	17
3.2 Monsternamen	17
3.3 Analyse monsters	17
3.3.1 Azolen	18
3.3.2 (Resistente) <i>Aspergillus</i>	18
3.4 Advisering effectieve maatregelen	18
4 Resultaten interviews	20
4.1 Uien	20
4.1.1 Areaal	20
4.1.2 Toegelaten azolen	20
4.1.3 Keten	20
4.1.4 Afval	21
4.2 Aardappelen	21
4.2.1 Areaal	21
4.2.2 Toegelaten azolen	21
4.2.3 Keten	21
4.2.4 Afval	22
4.3 Suikerbieten	24
4.3.1 Areaal	24
4.3.2 Toegelaten azolen	24
4.3.3 Keten	24
4.3.4 Afval	24
4.4 Aardbeien	25
4.4.1 Areaal	25
4.4.2 Toegelaten azolen	25
4.4.3 Keten	25
4.4.4 Afval	25

5 Resultaten monitoring	26
5.1 Uien	26
5.2 Aardappelen	28
5.3 Suikerbieten	29
5.4 Aardbeien	30
6 Reflectie	32
6.1 Aantreffen (resistente) <i>Aspergillus</i>	32
6.2 Resistentiebepaling en heterogeniteit	32
6.3 Vergelijking met internationale bevindingen	32
6.4 Land- en tuinbouwfval en vergisting	32
7 Conclusies en aanbevelingen	34
7.1 Conclusies	34
7.2 Aanbevelingen	35
Referenties	37
Bijlage: Geïnterviewde personen	39

Voorwoord

In eerdere onderzoeken zijn grote aantallen van de azoolresistente schimmel *Aspergillus fumigatus* aangetroffen, in bewaarhoppen van bollen- en groenafval. Mede op basis van internationale literatuur, is de verwachting dat deze resistente schimmel zich ook kan ontwikkelen in ander land-en tuinbouwafval. Ook zijn er aanwijzingen dat de schimmel snel af zal nemen in het planten-materiaal, door vergisting van het afval. De zoektocht naar het ontstaan en de ontwikkeling van resistente *Aspergillus fumigatus* is van belang, want de schimmel vormt een risico voor mensen met een verzwakt immuunsysteem en met longinfecties.

Op verzoek van RVO is door CLM een verkenning uitgevoerd naar de aanwezigheid van resistente *Aspergillus fumigatus* in land- en tuinbouwafval, mede in relatie tot vergisting. Op een aantal locaties zijn bewaarhoppen van akker- en tuinbouwgewassen bemonsterd en zijn metingen uitgevoerd.

Deze rapportage beschrijft de resultaten van het bemonsteringsonderzoek. Ter voorbereiding hebben we diverse personen geïnterviewd, om de keten van het land- en tuinbouwafval in beeld te brengen. Aansluitend hebben verschillende bedrijven en personen medewerking verleend aan de bemonstering. Laboratoria hebben metingen uitgevoerd. Onderzoekers van WUR, RIVM en Radboud UMC hebben meegedacht over de resultaten en bevindingen, evenals koepels van telers en ketens, te weten LTO Nederland en Glastuinbouw Nederland, NAO (Nederlandse Aardappel Organisatie), Plantum en Cosun Beet Company. We bedanken hen allen hartelijk voor de medewerking. We hopen dat het onderzoek zal bijdragen aan het verminderen van het ontstaan en de ontwikkeling van resistente *Aspergillus fumigatus*.

De auteurs

Samenvatting

Achtergrond

Aspergillus fumigatus is een schimmel die breed verspreid in het natuurlijke milieu voorkomt en daar organisch materiaal afbreekt. Uit onderzoek blijkt dat *A. fumigatus* de afgelopen jaren resistentie heeft ontwikkeld tegen azolen, een groep schimmelbestrijdingsmiddelen.

Resistente *A. fumigatus* vormt een risico voor mensen met een verzwakt immuunsysteem en met longinfecties. De medicinale azolen waarmee *A. fumigatus* bij zo'n infectie wordt bestreden lijken sterk op de azolen (pesticiden) die in de landbouw en voor andere toepassingen gebruikt worden. Onbekend is hoe infectie met (resistente) sporen van *A. fumigatus* bij de mens precies plaatsvindt. Onderzoek heeft aannemelijk gemaakt dat sporen, die mensen besmetten, uit het milieu afkomstig zijn. Met name in bewaarhoppen van organisch materiaal komen soms grote aantallen resistente *A. fumigatus* voor, zoals in de eerder geïdentificeerde 'hotspots' (bloembollenafval, groenafval en behandeld houtafval).

Uit internationaal onderzoek is gebleken dat op producten zoals ui, thee en aardbei, resistente *Aspergillus fumigatus* sporen zijn aangetroffen. Dat is verklaarbaar, want in diverse akker- en tuinbouwgewassen worden azolen gebruikt, en is soms sprake van opslag van plantaardig afval. Dit betreft deels reststromen, die op de lijst staan van toegestane producten voor vergisting. Voor RVO was dit aanleiding om CLM te vragen onderzoek te doen naar het ontstaan en de aanwezigheid van resistente *A. fumigatus* in plantaardig afval voor en na (co-)vergisting. De verwachting is dat de bevindingen uit het onderzoek aanknopingspunten bieden om resistentievorming aanzienlijk te verkleinen, door de biomassa geconditioneerd op te slaan of snel te verwerken, bijvoorbeeld via (co-)vergisting of verbranding.

Doel en werkwijze

Doel van het onderzoek is via gerichte interviews met ketenpartijen en gerichte aanvullende metingen, in de keten van akker- en tuinbouwgewassen, oplossingen in beeld te brengen om resistentievorming in *A. fumigatus* te voorkomen.

De volgende akker- en tuinbouwgewassen zijn geselecteerd: uien, aardappelen, suikerbieten en aardbeien. In deze gewassen worden namelijk azolen toegepast om schimmels te bestrijden én vindt opslag en verwerking van plantaardig afval plaats. De afval- en verwerkingsketen van deze gewassen zijn in beeld gebracht middels interviews. Op basis hiervan zijn de bemonsteringsplekken bepaald en zijn op een achttal locaties in totaal 29 monsters genomen. De aantallen (resistenties van) *A. fumigatus* en de concentratie van azolen in deze monsters zijn in gespecialiseerde laboratoria bepaald. Aantallen (resistente) *A. fumigatus* worden uitgedrukt in Colony Forming Units per gram (CFU/g). Wanneer de hoeveelheid resistente *A. fumigatus* > 1000 CFU/g is, betekent dit dat veel resistente schimmel in de afvalhoop aanwezig is. De bevindingen zijn besproken met experts van

Radboud UMC, RIVM en WUR. Daarnaast zijn resultaten en mogelijke maatregelen besproken met de betrokken bedrijven en koepels.

Resultaten

Uien

In totaal werden in 2020 ruim 35.000 hectare uien en sjalotten geteeld. In de uienteelt zijn azoolhoudende middelen toegelaten op basis van prothioconazool en tebuconazool.

Uienafval ontstaat vooral bij de **handelaar/verwerker**, omdat hier het schonen, sorteren en lezen plaatsvindt. Het materiaal wordt soms gecomposteerd door de verwerker, of afgevoerd naar de vergister. Bij de teler ontstaat ook wat afval, bij het in- en uitschuren (maximaal 1%), bestaande uit uien en vellen. Bij de teler gaat het afval het land op, meestal direct. Soms wordt het materiaal tijdelijk opgeslagen in een betonnen bak en wordt het later uitgereden op het land. Sporadisch slaan telers rotte uien op in afvalhopen op een perceel. Het is wettelijk verplicht vanaf 15 april uienafvalhopen af te dekken om verspreiding van valse meeldauw en koprot te voorkomen.

Op basis van deze informatie zijn bij een uien-verwerker de afgekeurde uien bemonsterd en deze bevatten geen azolen en geen resistente *A. fumigatus*. Uienpulp bij dezelfde verwerker bevatte wel azolen en een beperkt gehalte resistente *A. fumigatus* (1.230 CFU/g). Bewaarhopen van uienafval bij een teler, met rotte uien, bevatten zowel azolen als hoge aantallen resistente *A. fumigatus*. Bij het uienafval dat een maand lag, waren de aantallen hoog (> 14.000 CFU/g). Bij het afval dat een jaar lag waren deze zeer hoog (> 8 miljoen CFU/g).

Aardappelen

In 2020 werd in totaal 165.600 hectare aardappelen geteeld¹. In de aardappelteelt zijn azoolhoudende middelen toegelaten op basis van difenoconazool, prothioconazool en thiabendazool. Bij de aardappelteelt komt afval in de vorm van loof, grond en aardappels vrij, bij het in- en uitschuren en bij het sorteren. Soms gaat dit afval direct terug naar het land, vaak blijft het enige tijd liggen in hopen op het erf of op het land. Het is wettelijk verplicht om na 15 april aardappelafvalhopen met plastic af te dekken, om aardappelopslag en ziekteverspreiding te voorkomen. Bij de aardappelhandelaren komt - bij sorteren en wassen - zogenaamde tarragrond² vrij. En naast grond ook kleine knolletjes, stukjes aardappel en vooral loofresten. Een deel van de handel heeft een terrein waarop de tarragrond voor langere tijd ligt, een ander deel heeft een gesloten systeem voor de tarragrond: containers in een loods.

Op basis van deze keteninformatie zijn bij telers (een gangbare en een biologische) en een handelaar afvalhopen bemonsterd. Het aardappelafval dat gedurende 1 dag binnen was opgeslagen, bevatte geen azolen en nauwelijks resistente *A. fumigatus*. Ook het aardappelafval dat tussen 60 en 75 dagen buiten lag, bevatte nauwelijks resistente *A. fumigatus*. In twee gevallen wel azolen en in één geval geen azolen. In één van de monsters, waar vooral sprake was van fijn organisch materiaal, zijn zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus* (> 4 miljoen CFU/g) en azolen aangetroffen.

Suikerbieten

In 2020 is op 81.500 hectare suikerbieten geteeld. Azoolhoudende middelen, die in suikerbieten zijn toegelaten, zijn: cyproconazool, difenoconazool, epoxiconazool en hymexazool.

Suikerbieten worden tussen half september en eind januari gerooid. Het loof blijft op het veld en wordt ondergewerkt. De bieten liggen na het rooien op een hoop op het erf, of op het land, gedurende enkele dagen tot maximaal 2 maanden, voordat ze naar de fabriek worden

¹ circa de helft consumptieaardappelen, circa een kwart pootaardappelen en circa een kwart zetmeelaardappelen.

² tarragrond is aanhangende grond die vrijkomt bij het behandelen van gewassen na de oogst.

getransporteerd. De tarra bij suikerbieten (10%) is voornamelijk grond. In de fabriek worden bietenpunten van de bieten verwijderd en binnen in een bunker bewaard, om ook vergist te worden. Tijdens de suikerproductie ontstaat daarnaast bietenpulp. De bietenpulp is bestemd voor veevoer en voor vergisting. De ligduur van pulp, bestemd voor veevoer, is maximaal één dag. De pulp bestemd voor vergisting wordt in afgedekte hopen opgeslagen.

Op basis van dit overzicht zijn monsters genomen van suikerbieten die op een akkerbouwbedrijf lagen opgeslagen. Deze bieten bevatten nauwelijks resistente *A. fumigatus* en geen azolen. De bietenpunten zijn ook bemonsterd. De grovere en fijnere bietenpunten, die bij de fabriek worden opgeslagen voordat vergisting plaatsvindt, bevatten lage aantallen resistente *A. fumigatus*. In deze punten zijn wel azolen aangetroffen. Bietenpulp is niet bemonsterd.

Aardbeien

In 2020 werd op 2.446 hectare aardbeien geteeld. Azoolhoudende middelen die in de aardbeienteelt zijn toegelaten, zijn difenoconazool en penconazool.

Productie van aardbeien vindt plaats in de vollegrond, op stellingen, in plastic tunnels en in de kas. Gespecialiseerde plantenkweekbedrijven leveren het uitgangsmateriaal.

Bij de teelt in de vollegrond en onder tunnels blijven aan het eind van het groeiseizoen planten en stro op het land. Deze worden ondergewerkt.

Bij de teelt op stellingen en onder glas, staan de planten staan op substraat (veen en/of kokos). Na een jaar worden in de periode half april – half mei substraat en planten ondergewerkt onder de stellingen, of op een hoop gelegd gedurende maximaal circa 3 weken en daarna uitgereden als grondverbeteraar.

Bij de plantenvermeerderders ontstaat plantaafval in de periode half november – half januari. Dit materiaal wordt over het algemeen direct naar het land afgevoerd om ondergewerkt te worden. Soms wordt het materiaal op een hoop bewaard.

De bemonstering in de aardbeien heeft plaatsgevonden bij een aardbeienplantenkweker, omdat daar in de monsterperiode (winter 2020/2021) afvalopslag aanwezig was. In de afvalhopen van aardbeienplanten zijn zowel azolen als zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus fumigatus* aangetroffen (585.000 CFU/g tot > 4 miljoen CFU/g).

Conclusies en aanbevelingen

Conclusies

1. Afvalhopen van rotte **uien** bevatten zowel azolen als zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus fumigatus*. Met name het afval dat meer dan een jaar op een landbouwperceel van een akkerbouwer ligt, bevat zeer hoge aantallen (> 8 miljoen CFU/g) met een resistentiepercentage van 69%. De aantallen in het rotte uienafval, dat een maand ligt bij de teler, zijn lager, maar ook nog steeds aanzienlijk (> 14.000 CFU/g met een resistentiepercentage van 17%). Deze twee afvalhopen zijn hotspots voor het ontstaan en de ontwikkeling van azoolresistente *Aspergillus*. Uienpulp bij een verwerker bevat verhoogde aantallen resistentie (1.230 CFU/g) bij de maximale bewaartijd van 7 dagen. Op afgekeurde uien zelf is geen resistentie aangetroffen.
2. Ook in afvalhopen van **aardbeienplanten** zijn zowel azolen als zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus fumigatus* aangetroffen. Het materiaal met een ligtijd van 120 dagen bevat zeer hoge aantallen resistentie (> 4 miljoen CFU/g) met een resistentiepercentage van 15%. De aantallen in het aardbeienafval, dat 5 en 7 dagen op de afvalhoop ligt, zijn ook hoog (734.000 respectievelijk 585.000 CFU/g). Deze drie afvalhopen zijn hotspots voor het ontstaan en de ontwikkeling van azoolresistente *Aspergillus*.

3. In afvalhopen van **consumptie-aardappelen**, met vooral grond en loof, zijn azolen aangetroffen en voornamelijk lage aantallen resistente *Aspergillus*. In één van de monsters, waar vooral sprake is van fijn organisch materiaal, zijn zeer hoge aantallen resistent *A. fumigatus* aangetroffen (> 4 miljoen CFU/g). Deze afvalhoop is een hotspot voor de ontwikkeling van azoolresistente *Aspergillus*.
4. In **suikerbieten**, die bij een akkerbouwer waren opgeslagen, zijn lage aantallen resistente *Aspergillus* aangetroffen. Ook in de bietenpunten bij de verwerker zijn de gehalten laag.
5. In de uien- en bietenketen is sprake van vergisting. Bij de uien wordt uienpulp vergist. De uienpulp bij de verwerker bevatte -voordat vergisting plaatsvond -verhoogde aantallen resistentie (1.230 CFU/g). Bij de bieten vindt vergisting van de bietenpunten plaats; de bemonsterde punten bleken maximaal 870 CFU/g te bevatten, voordat vergisting plaatsvond. In beide was het helaas niet mogelijk het vergiste materiaal te onderzoeken. De verwachting is dat na vergisting geen *Aspergillus* meer aanwezig zal zijn, zoals vastgesteld in eerder monitoringsonderzoek door CLM.

Aanbevelingen

1. In deze verkenning konden slechts een beperkt aantal locaties en afvalhopen onderzocht worden. Aanbeveling aan het ministerie van LNV is om gericht een vervolgonderzoek uit te laten voeren, om de bevindingen in deze verkenning te bevestigen en met name de niet bemonsterde afvalopslag, in de keten van suikerbieten en aardbeien, alsnog te bemonsteren.
2. We bevelen telers en verwerkers aan om uit voorzorg geen afvalhopen te maken of aan te houden, zoals nu met de rotte uienhopen en de aardbeienafvalhopen wel het geval was. Dat kan door dit afval direct over het land te verspreiden of te verwerken. Dit voorkomt namelijk het ontstaan van grote aantallen azoolresistente *Aspergillus*. Hierbij is het mogelijk aan te sluiten bij het protocol voor bollenafval. Dit bollenafvalprotocol is opgesteld door het Ctgb³ en schrijft voor dat azoolhoudend afval moet worden afgedekt en maximaal twee weken mag worden opgeslagen. Het mag aansluitend worden vergist, verbrand of gecomposteerd en uitgereden. Voor aardappel- en uienhopen geldt al de wettelijke verplichting deze hopen na 15 april af te dekken. Ook hierbij kan worden aangesloten, waarbij het advies is het afdekken ook vóór 15 april uit te voeren.
3. Het stoppen met het gebruik van azoolhoudende gewasbeschermingsmiddelen is een andere methode om de ontwikkeling van resistente *Aspergillus* in afvalhopen te verminderen of te voorkomen. Hierbij is de vraag in hoeverre deze groep van schimmelbestrijders voor de gewasbescherming van deze gewassen gemist kan worden. Daar waar dit mogelijk is, lijkt dit een effectieve maatregel. Wel zijn er aanwijzingen dat in land- en tuinbouwafval zonder azolen, toch inwaaier van resistente sporen plaats kan vinden. In welke mate dit een rol speelt is nog onbekend.
4. We adviseren via monitoring te toetsen of aangepaste methodes van afvalverwerking afdoende zijn, om de ontwikkeling van hoge aantallen azoolresistente *Aspergillus* te voorkomen.
5. Vanwege de hoge aantallen azoolresistente *Aspergillus* in het aardbeienafval, adviseren we het ministerie van LNV ook verder onderzoek te laten doen in andere vollegrondsgroenten, zoals kolen. Ook daar is namelijk sprake van azolengebruik in de teelt én van opslag van plantafval na de oogst.

³ College voor de Toelating van Gewasbeschermingsmiddelen en Biociden

Summary

Exploring the occurrence of azole-resistant *Aspergillus fumigatus* in the agricultural and horticultural chain

Background

Aspergillus fumigatus is a fungus that is widely distributed in the natural environment, where it breaks down organic material. Research has shown that *A. fumigatus* has recently developed resistance to azoles, a group of fungicides.

Azole-resistant *A. fumigatus* poses a risk to people with weakened immune systems and lung infections. The medicinal azoles used to combat *A. fumigatus* in such an infection are very similar to the azoles (fungicides) that are used in agriculture and for other applications. It is unknown exactly how infection with spores of resistant *A. fumigatus* takes place. Research has shown that the spores that infect people originate from the environment. Large numbers of resistant *A. fumigatus* sometimes occur, particularly in storage piles of organic waste, such as the previously identified 'hotspots' (flower bulb waste, green waste and treated wood waste).

International research has shown that spores of resistant *Aspergillus fumigatus* have been found on products such as onions, tea and strawberries. This is because azoles are used in various arable and horticultural crops, and waste from these crops is sometimes stored before composting or processing. This partly concerns residual flows of products that are authorised for use in biogas generation.

This prompted RVO to ask CLM to investigate the origin and presence of resistant *A. fumigatus* in plant waste before and after biogas generation. The expectation was that the findings in the present study would provide strategies to substantially reduce resistance development by storing the plant waste in a conditioned facility or by processing it quickly, for example in a biogas digester or incinerator.

Aim and method

The aim of the study was to identify solutions to prevent resistance development in *A. fumigatus* based on information from a limited number of interviews with chain participants and on targeted measurements in the arable agriculture and horticulture chains.

For this purpose, the following arable and horticultural crops were selected: onions, potatoes, sugar beets and strawberries. As part of the production cycle for these crops, azoles are used to combat fungi, and plant waste is stored and processed. The waste and processing chain of the crops was mapped out by means of interviews. This information was then used to identify sampling locations: a total of 29 samples were taken at eight locations. These samples were subsequently analysed by specialised laboratories to determine the levels of resistant *A. fumigatus* and the concentrations of azoles. The level of *A. fumigatus* is expressed in CFU/g (Colony Forming Units per gram).

Resistant *A. fumigatus* above 1000 CFU/g in a waste pile was defined as a threshold level. The findings were discussed with experts from Radboud UMC, RIVM and WUR. In addition, the results and possible measures were discussed with the growers/farmers, businesses and sector organisations involved.

Results

Onions

In total, more than 35,000 hectares of onions and shallots were grown in the Netherlands 2020. Products containing the azoles prothioconazole and tebuconazole are authorised for the cultivation of onions.

Onion waste is mainly generated by *traders* and *processors* as a result of cleaning, sorting and grading. The onion waste is sometimes composted by the processor or transported to a biogas digester. During storage of onions, growers also generate some waste (less than 1%) consisting of rejected onions and onion skins. This waste is spread on the farmland, usually immediately, but is sometimes stored temporarily in a concrete container and is spread on the land later. Growers occasionally store unsound, rotten onions in waste piles on a field. It is mandatory to cover the waste piles from 15th April onwards to avoid spreading of plant diseases. Based on this information from interviews, we sampled rejected onions at an onion processor. No azoles and no resistant *Aspergillus fumigatus* were detected. Onion pulp from the same processor did contain azoles; the analysis also showed a level of resistant *A. fumigatus* that slightly exceeded the threshold (1,230 CFU/g). Azoles and high levels of resistant *A. fumigatus* were detected in samples from piles of onion waste with unsound, rotten onions stored by a grower. In onion waste that he had stored for a month, these levels were high (>14,000 CFU/g). In waste that he stored for a year, the levels of resistant *A. fumigatus* were very high (>8 million CFU/g).

Potatoes

In 2020, a total of 165,600 ha of potatoes were grown in the Netherlands.⁴ Azole-containing products based on difenoconazole, prothioconazole and thiabendazole are authorised in potato cultivation.

In potato cultivation, waste in the form of leaves, soil tare and potatoes is generated during storage and sorting. Sometimes this waste is returned directly to the land, but it is often stored for some length of time in piles in the farmyard or on the farmland. According to law, potato waste piles must be covered with plastic after April 15 to prevent potato cyst nematode and disease transmission. During sorting and washing at the facilities of potato traders, soil tare and small tubers, pieces of potato and especially leaf residues are generated. Some of these traders keep the soil tare outdoors for a longer period of time, while others have system of closed containers in a warehouse.

Based on this information from the chain, waste piles were sampled at two growers (a conventional and organic farmer) and one trader. Potato waste that was stored indoors for 1 day contained no azoles and hardly any resistant *A. fumigatus*. Potato waste that was left outdoors for between 60 and 75 days also contained hardly any resistant *A. fumigatus*. Azoles were detected in two cases, and in one case no azoles were found. In one of the samples, which consisted mainly of fine organic material, very high levels of resistant *A. fumigatus* (>4 million CFU/g) and azoles were found.

Sugar beets

⁴ approximately 50% ware potatoes, 25% seed potatoes and 25% starch potatoes

In 2020, sugar beets were grown on 81,500 ha. in the Netherlands. Products containing the following azoles as active substances are authorised in sugar beet cultivation: cyproconazole, difenoconazole, epoxiconazole and hymexazole.

Sugar beets are harvested between mid-September and the end of January. The foliage stays on the field and is incorporated into the soil. After being harvested, the beets are stored in a pile in the farmyard or on the farmland for a few days to a maximum of 2 months, and are then transported to the factory. Sugar beet tare (10%) consists mainly of soil. At the factory, beet tips are removed and stored inside a bunker until they are used for biogas generation. During sugar beet processing, beet pulp is also produced. This by-product is intended for animal feed and biogas generation. The pulp that is destined for animal feed is stored for a maximum of 1 day. The pulp for biogas generation is stored in covered piles.

Based on this information, samples were taken from sugar beets that were stored on an arable farm. These samples contained hardly any resistant *A. fumigatus* and no azoles. The beet tips were also sampled. Coarser and finer beet tips stored at the factory before biogas generation contained low levels of resistant *A. fumigatus*., but azoles were also detected. Beet pulp was not sampled.

Strawberries

In 2020, strawberries were grown on 2,446 ha in the Netherlands. Products containing the azoles difenoconazole and penconazole are authorised for strawberry cultivation.

Strawberry cultivation takes place in fields (unprotected cultivation), on raised racks, in plastic tunnels and in greenhouses. Specialised plant propagators supply the starting material.

In unprotected cultivation and under tunnels, at the end of the season the plants and straw mulch remain on the land and are incorporated into the soil. In cultivation on raised racks and in greenhouses, the plants are grown on substrate (peat and/or coco). After a year, in the period from mid-April to mid-May, the substrate and plants are either incorporated into the soil under the racks or are stored in a pile for a maximum of about 3 weeks and are then used as a soil conditioner. Plant propagators generate plant waste in the period from mid-November to mid-January. This waste material is generally taken directly to the land for incorporation into the soil. Sometimes the material is also stored in a pile.

Samples were taken at a strawberry grower because plant waste was stored there during the sampling period (winter 2020/2021). In the waste piles of strawberry plants, the analysis detected azoles and very high levels of resistant *Aspergillus fumigatus* (from 585,000 CFU/g to >4 million CFU/g).

Conclusions and recommendations

Conclusions

1. Waste piles of unsound **onions** contained azoles and very high levels of resistant *Aspergillus fumigatus*. In particular, a waste pile that was stored on an agricultural parcel of an arable farmer for more than a year contained very high levels (>8 million CFU/g) of *A. fumigatus* with a resistance percentage of 69%. Levels of resistant *A. fumigatus* detected in a pile of onions that had been stored by the grower for one month were lower, but still considerable (>14,000 CFU/g). These two piles are hotspots for the emergence and development of azole-resistant *A. fumigatus*. At an onion processor, onion pulp is stored for a maximum of 7 days; the pulp that was sampled at this time point contained a relatively high level of resistant *A. fumigatus*(1,230 CFU/g). No resistant *A. fumigatus*were detected on the rejected onions themselves.

2. In waste piles of **strawberry** plants, azoles and very high levels of resistant *Aspergillus fumigatus* were detected. A waste pile that was stored for 120 days contained the highest levels of

resistant *A. fumigatus* (> 4 million CFU/g) with a resistance percentage of 15%. The level was also very high in a second waste pile that was stored for 5 days (734,000 CFU/g) and a third waste pile that was stored for 7 days (585,000 CFU/g). These three waste piles are hotspots for the emergence and development of azole-resistant *A. fumigatus*.

3. Azoles were detected in waste piles from **ware potatoes**, consisting mainly tare soil and foliage waste; resistant *A. fumigatus* were also detected, but mostly at low levels. In one of the samples, which consisted mainly of fine organic material, very high levels of resistant *A. fumigatus* (>4 million CFU/g) were detected. This waste pile is a hotspot for the development of azole-resistant *A. fumigatus*.

4. Low levels of resistant *A. fumigatus* were detected in **sugar beets** stored on an arable farm. The detected levels in the beet tips at the processor were also low.

5. In the onion and sugar beet chains, plant waste is used for biogas generation. In the onion chain, onion pulp is used for this purpose. Prior to biogas production, levels of resistant *A. fumigatus* above the threshold (1,230 CFU/g) were detected in pulp stored at the onion processor. In sugar beets, the beet tips are used for biogas production, and samples of the stored tips were found to contain a maximum of 870 CFU/g of resistant *A. fumigatus*. Although it was not possible to analyse the biogas effluent in either case, a previous monitoring study by CLM detected no *A. fumigatus* in biogas effluent.

Recommendations

1. In this exploratory study, a limited number of locations and waste piles were sampled. We therefore recommend a larger follow-up study to confirm the current findings. In particular, more waste storage piles in the sugar beet and strawberry chain should be sampled.

2. As a precautionary measure, we recommend that growers and processors avoid storing plant waste, such as onions and strawberry waste, in piles. Instead, the waste can be immediately incorporated into the soil or processed into biogas. This prevents the development of high levels of azole-resistant *A. fumigatus*. One option is to follow the Ctgb protocol for flower bulb waste. This prescribes that azole-containing waste must always be covered and cannot be stored for more than 2 weeks. It can subsequently be processed into biogas, incinerated, or composted and spread on the field. For potato and onion waste piles it is mandatory to cover the piles after 15th April. It's possible to connect with this rule. The advice is then to cover the piles before 15th April as well.

3. Another possibility for reducing or preventing the development of resistant *A. fumigatus* in waste piles is to discontinue the use of azole-containing plant protection products. The question here is to what extent this group of fungicides is still essential for plant production. Where this is possible, it appears to be an effective measure. There are indications, however, that airborne resistant spores can still contaminate agricultural and horticultural waste that is free of azoles. To what extent this plays a role is still unknown.

4. We recommend monitoring to determine whether modified methods of waste processing are sufficient to prevent the development of high levels of azole-resistant *A. fumigatus*.

5. Due to the high levels azole-resistant *A. fumigatus* detected in strawberry waste, we recommend further research into other field-grown vegetables such as cabbage. Azoles are also used in the cultivation of these crops can be present in plant waste after harvesting.

1

Inleiding

1.1

Aanleiding onderzoek

Aspergillus fumigatus is een schimmel die breed verspreid in het natuurlijke milieu voorkomt en daar organisch materiaal afbreekt. Uit onderzoek blijkt dat deze schimmel de afgelopen jaren resistentie heeft ontwikkeld tegen azolen. Azolen zijn een groep middelen waarmee schimmels bestreden kunnen worden en ze hebben een breed toepassingsgebied: als gewasbeschermingsmiddel, biocide voor houtverduurzaming en (dier)geneesmiddel.

Tegen azolen resistente *Aspergillus* vormt met name een risico voor patiënten met een verzwakt immuunsysteem en met longinfecties. In bewaarhoppen van organisch materiaal komen soms grote aantallen resistente *A. fumigatus* voor. Sporen van deze schimmel verspreiden zich via de lucht. Onbekend is hoe infectie met (resistente) sporen van *A. fumigatus* exact plaatsvindt. Wageningen Universiteit en Radboud UMC hebben, via DNA-onderzoek van resistente *Aspergillus*, aannemelijk gemaakt dat de sporen, die patiënten besmetten, uit het milieu afkomstig zijn (Schoustra et al. 2019a en 2019b).

De resistente schimmel wordt soms ook aangetroffen in reststromen die op de lijst staan van toegestane producten voor vergisting (Verweij et al. 2017). Het vermoeden is dat de schimmel in meer reststromen aanwezig is (Leendertse et al. 2021a). Daarom is praktijkonderzoek nodig naar de aanwezigheid van resistente *Aspergillus fumigatus*, op en in biomassa voor en na (co-)vergisting. In monitoringsonderzoek waarbij ook het digistaat vergisting is onderzocht werd geen resistentie aangetroffen (Leendertse et al. 2021b). Dit type informatie kan gebruikt worden om praktische maatregelen tegen het ontstaan van resistente *Aspergillus fumigatus* te formuleren.

1.2

Achtergrond

In het kader van het klimaatakkoord moet Nederland 49% minder CO₂-eq uitstoten in 2030, ten opzichte van 1990. Bio-energie levert een belangrijke bijdrage aan deze doelstelling. Minimaal 60% van de huidige duurzame energiemix bestaat namelijk uit biomassa. De biomassa die hiervoor gebruikt wordt, kan grofweg in de volgende twee stromen verdeeld worden:

- houtige biomassa die overwegend verbrand wordt voor energieopwekking.
- Natte biomassa die overwegend vergist wordt voor de productie van biogas voor bio-energie.

Bij de opslag van biomassa, voor bijvoorbeeld bio-energie, kan onder bepaalde omstandigheden de schimmel *Aspergillus fumigatus* resistent worden tegen azolen. De verspreiding van de resistente schimmel kan, zo is uit eerder onderzoek gebleken, worden verminderd wanneer de verblijftijd van de biomassa in de openlucht wordt verkort. Door de biomassa geconditioneerd op te slaan, of snel te verwerken, bijvoorbeeld via (co-)vergisting of verbranding, is de verwachting dat de kans op het risico van resistente *Aspergillus fumigatus* voor de gezondheid van de mens, significant verkleind wordt.

1.3

Doel onderzoek

Naar de resistentie-ontwikkeling van *A. fumigatus* in de afvalketen van akkerbouwgewassen en vollegrondsgroenten, is tot nu toe weinig onderzoek gedaan. Om vast te stellen of zich in deze ketens hotspots kunnen vormen, zijn metingen noodzakelijk (Leendertse et al. 2021a). Een hotspot is een plek waar de omstandigheden dusdanig zijn dat resistente *A. fumigatus* kan ontstaan. Door metingen uit te voeren in situaties waarin biomassa geconditioneerd wordt opgeslagen, of snel verwerkt, bijvoorbeeld via (co-)vergisting of verbranding, kan worden vastgesteld of ontwikkeling van resistente *Aspergillus fumigatus* op deze manier significant verkleind wordt.

Doel van het onderzoek is via een beperkt aantal interviews met ketenpartijen en gerichte aanvullende metingen in de vergistingsketen oplossingen in beeld brengen om resistentievorming in *A. fumigatus* te voorkomen.

2

Eerder uitgevoerd onderzoek

2.1 **Aspergillus fumigatus**

Aspergillus fumigatus is, zoals in de inleiding vermeld, een schimmel die een risico vormt voor mensen met een verzwakt immuunsysteem. Het is een schimmel die groeit op dood plantenmateriaal en grote hoeveelheden sporen produceert die in de lucht komen die mensen vervolgens kunnen inademen. Voor gezonde mensen vormt dit geen gevaar, maar voor patiënten met een verzwakt immuunsysteem kan dit zorgen voor ernstige longinfecties, met overlijden als gevolg. Een infectie met deze schimmel wordt veelal behandeld met een medicijn dat azolen bevat.

De schimmel *A. fumigatus* heeft afgelopen decennia resistentie ontwikkeld tegen azolen. Behandeling van de schimmel met medische azolen werkt meestal niet meer, omdat bij patiënten steeds vaker resistente *A. fumigatus* wordt aangetroffen. De azolen waarmee *A. fumigatus* bij een infectie wordt bestreden (medicinale azolen) lijken sterk op de azolen (pesticiden) die in de landbouw en voor andere toepassingen gebruikt worden. Het ontstaan van resistentie is hoogstwaarschijnlijk veroorzaakt door deze niet-medicinale toepassingen (Van der Wal e.a. 2014, Verweij e.a. 2017, Schoustra et al. 2019a en 2019b).

2.2 **Resistentie-ontwikkeling van *A. fumigatus* in afval van bollen, groen en hout**

Azolen worden breed gebruikt als schimmelbestrijder in diverse teelten. Het gebruik van azolen kent ook andere toepassingen om schimmeligroei te voorkomen, waaronder houtbehandeling. Resistentie-ontwikkeling van *A. fumigatus* blijkt vooral plaats te vinden in afvalhopen van plantenmateriaal, dat opgeslagen ligt als voorbereiding op de verwerking (compostering en (co-)vergisting). Dit blijkt uit het 'hotspot'-onderzoek dat CLM - samen met Radboud UMC, WUR en RIVM - enkele jaren geleden heeft uitgevoerd (Verweij et al. 2017). Met name in bollenafvalhopen, afvalhopen voor groencompost (organische reststromen) en in houtafval, dat met azolen behandeld hout bevat, zijn grote hoeveelheden resistente *A. fumigatus* sporen aangetroffen (Verweij et al. 2017, Leendertse et al. 2021b). De studie van Schoustra et al. (2019b) laat zien dat opslag van plantafval in de bollenteelt gunstig is voor de selectie van resistente *A. fumigatus*. Inmiddels heeft het Ctgb eisen gesteld aan de opslag van bollenafval in bollenteelt, om te zorgen voor kortere opslag en veilige verwerkingsmethoden (Ctgb Nieuws 2021).

In de studie van Verweij et al. (2017) bleken groenafvalhopen (waar azolen zijn aangetroffen) en houtafvalhopen van met azolen verduurzaamd B en C-hout (waarvoor azolen gebruikt zijn als biocide), ook mogelijke hotspots voor het ontstaan en de verspreiding van resistente van *A. fumigatus* te zijn. Omdat over deze mogelijke hotspots nog onvoldoende kennis beschikbaar was, heeft Rijkswaterstaat (RWS) CLM gevraagd hier onderzoek naar te doen, via literatuuronderzoek, interviews met partijen in deze afvalketens en monitorings-onderzoek (Leendertse et al. 2021a en 2021b).

In het monitoringsonderzoek (Leendertse et al. 2021b), bleken alleen onder specifieke omstandigheden (fijn of semi-grof versnipperd), grote aantallen resistente *A. fumigatus* aanwezig te zijn in houtafvalhopen. De houtafvalhopen bevatten ook azolen, met name tebuconazool en propiconazool. Groenafvalhopen op biomassawerven bevatten grote aantallen resistente *A. fumigatus*, terwijl niet altijd azolen zijn aangetroffen. Tijdens compostering nemen de aantallen sterk af en in de compost zelf zijn de aantallen laag. Kleine groenafvalhopen bij tussenopslag, gemeenteopslag en bij opslag voor de Kleine Kringloop bevatten soms resistente *A. fumigatus*. GFT en land- en tuinbouwfval dat wordt vergist bevat soms enige resistente *A. fumigatus*. De bewaartijd van dit afval is kort en na vergisting bleek de resistentie verwaarloosbaar laag (Leendertse et al. 2021b).

2.3

Resistentie-ontwikkeling van *A. fumigatus* in de afvalketen van akkerbouwgewassen en vollegrondsgroenten

Uit recent onderzoek is gebleken dat ook op andere producten, zoals ui, thee en aardbei, sporen van resistente *Aspergillus fumigatus* zijn aangetroffen (Croplife international 2020, Fraaije et al. 2021, Chen et al. 2020); naast de drie eerder geïdentificeerde hotspots in afval van bloembollen, groen en behandeld hout. In vele (akkerbouw)gewassen worden azolen gebruikt. In Nederland is het gebruik in de akkerbouw (granen, aardappelen, uien en suikerbieten), hoog in vergelijking met andere gewassen. De laatste jaren is met name het gebruik in aardappelen opvallend sterk gestegen. Mogelijke ontwikkeling van resistentie in ketens van aardappelen, uien en suikerbieten (en in de opslag, compostering en vergisting) is echter nog niet onderzocht (Leendertse et al. 2021a).

In vollegrondsgroentegewassen zoals aardbeien en kolen worden ook azolen gebruikt. Hoewel het gebruik van azolen in deze gewassen minder is dan in akkerbouwgewassen en de arealen kleiner, zijn, wel is sprake van opslag en vergisting van dit land- en tuinbouwfval.

3

Werkwijze

3.1

Meetplan en werving bemonsteringslocaties

Op basis van het eerdere onderzoek ‘Groen- en houtafval als bron van azolenresistente schimmel’ (Leendertse et al. 2021a) zijn, in overleg met opdrachtgever RVO, relevante akker- en tuinbouwgewassen geselecteerd, namelijk: uien, aardappelen, suikerbieten en aardbeien. De afval- en vergistingsketen van de betreffende producten zijn nauwkeurig in beeld gebracht, middels een interview met één of enkele experts uit de betreffende verwerkingsketen. Op basis hiervan zijn de bemonsteringsplekken bepaald, ook met de hulp van de geïnterviewde experts.

3.2

Monstername

Vervolgens is het afval van uien, aardappel, suikerbieten en aardbeien bemonsterd, op de plekken in de keten waar dit afval wordt opgeslagen. De bemonstering is in de meeste gevallen uitgevoerd door CLM. In enkele gevallen heeft de bemonstering plaatsgevonden door medewerkers van de handelaar, omdat bedrijfsbezoek en bemonstering door CLM niet mogelijk was, vanwege de corona-richtlijnen. De monsters zijn genomen op circa 50 cm diepte. Op die diepte is ook de temperatuur bepaald. Deze liep uiteen van 5 tot 31 graden. In het bieten- en aardappelafval zijn geen temperatuurbepalingen gedaan. Het bietenafval is door het bedrijf zelf bemonsterd waarbij geen temperatuurmeting is uitgevoerd. Het materiaal broeide echter niet. In het aardappelafval zijn geen temperatuur-bepalingen gedaan, omdat de thermometer brak. Dit afval had de buitentemperatuur, die op dat moment tussen 0 en 5 °C lag.

In tabel 1, op de volgende pagina, is aangeven op hoeveel plekken in de betreffende keten is bemonsterd en om welk type materiaal het gaat. Op de meeste plaatsen zijn twee monsters genomen en geanalyseerd (1A en 1 B). In totaal zijn 29 monsters van 15 plekken geanalyseerd. Voor aardbeien betreft het afval bij een aardbeienplantenkweker. Bij aardappelafval is bemonsterd bij een aardappelverwerker, en bij een gangbare en biologische aardappelteler.

3.3

Analyse monsters

Het voorkomen van (resistenties van) *A. fumigatus* en de aanwezigheid en concentraties van azolen zijn in gespecialiseerde laboratoria bepaald.

Tabel 1: Bemonsterd materiaal, aantal plekken, typering en ligduur

Materiaal	Aantal plekken	Type materiaal (en ligduur in dagen/weken/maanden/jaar)
Uien	4	Uienafval (4/5 weken, uienafval (> 1 jaar), uienpulp (maximaal 7 dagen), uitgeselecteerde uien (1 dag)
Aardappel	5	Aardappelafval (2 en 3 maanden, bij handelaar), aardappelafval (2,5 maanden, 2 maanden en 1 dag, bij boer)
Suikerbieten	3	Bietenpunten (grof en fijn, 1 dag, bij suikerfabriek) en bieten (1 maand, bij boer)
Aardbeien	3	Aardbeienafval (4 maanden, 1 week en 5 dagen)

3.3.1

Azolen

De monsters, bestemd voor analyse op azolen, zijn onderzocht door het gecertificeerde laboratorium Groen Agro Control. Groen Agro Control heeft hiervoor de GC-MS/MS-methode en de LC-MS/MS-methode toegepast. Er is geanalyseerd op alle azolen die zijn toegelaten als gewasbeschermingsmiddel, te weten (in alfabetische volgorde): bromuconazool, cyproconazool, difeconazool, epoxiconazool, imazalil, metconazool, paclobutrazool, penconazool, prochloraz, prothioconazool, prothioconazool-desthio (metaboliet van prothioconazool), tebuconazool, trifumizool, triticonazool) en azolen die gebruikt worden als biocide, namelijk: cyproconazool, imazalil, propiconazool en tebuconazool. De detectielimiet voor alle azolen was 0,01 mg/kg.

3.3.2

(Resistente) *Aspergillus*

De analyse van de aanwezigheid van (resistenties van) *A. fumigatus* is uitgevoerd door Wageningen University & Research (Departement Plantenwetenschappen, Laboratorium voor Erfelijkheidsleer).

De volgende werkwijze is daarbij gehanteerd:

- Alle monsters zijn voorbereid door 5,0 g monster toe te voegen aan 30 ml buffer (0,8% saline met 0,05% Tween-80). Verdunningen van de verkregen oplossingen zijn gemaakt in 0,8% saline met 0,005% Tween-80.
- De aanwezigheid van *A. fumigatus* in de monsters, is bepaald door 50 µl monster uit te platen op agar platen. Aanwezigheid van resistente *A. fumigatus* is getest door monsters uit te platen op agar platen, in aanwezigheid van itraconazool (4 µg/ml) of tebuconazool (4 µg/ml).
- De detectielimiet voor alle monsters was 120 CFU/g.

3.4

Advisering effectieve maatregelen

De uitkomst van de metingen, in combinatie met de kennis van de ketens, is gebruikt om effectieve maatregelen te formuleren om resistentievorming te voorkómen. Praktische uitvoerbaarheid is daarbij meegenomen.

De resultaten van de metingen zijn besproken met de experts van Radboud UMC en WUR, inclusief de vervolgvragen en mogelijke oplossingsrichtingen, om hotspots in de onderzochte

sectoren te vermijden.

Draagvlak voor de onderzoeksresultaten en mogelijke maatregelen zijn van belang. Resultaten en mogelijke maatregelen zijn daarom ook besproken met de betrokken partijen: de primaire sector (LTO Nederland en Glastuinbouw Nederland), NAO (Nederlandse Aardappel Organisatie), Plantum, Cosun Beet Company, RVO, RWS en de ministeries van EZK, I&W, VWS en LNV.

4

Resultaten interviews

Om inzicht te krijgen in de ketens van uien, aardappelen, suikerbieten en aardbeien, zijn een aantal experts geïnterviewd, werkzaam in de voorlichting, het onderzoek en in de verwerking (zie bijlage 1). Zowel de aard van de keten, de plaatsen waar het afval vrijkomt, de samenstelling en de hoeveelheden afval en de wijze van bewaren als de bewaarduur van het afval, zijn aan de orde geweest, evenals als de bestemming van het afval. De geïnterviewden zijn behulpzaam geweest bij het vinden van geschikte bemonsteringsplekken.

4.1 Uien

4.1.1 Areaal

In 2020 werd 1,3 miljoen ton zaaiuien geproduceerd op 27.300 hectare (CBS Statline 2021a). Daarnaast werd 6.500 hectare plantuien (2^e jaars) geteeld (CBS Statline 2021a). Tot slot werden op circa 1.500 hectare sjalotten en 1^e jaars plantuien geteeld (med. L. Remijn, Delphy, 2021). Van de geproduceerde uien wordt 90% geëxporteerd.

4.1.2 Toegelaten azolen

In de uien zijn azoolhoudende middelen toegelaten op basis van prothioconazool en tebuconazool (Ctgb Toelatingen 2021).

4.1.3 Keten

In totaal werden in 2020 ruim 35.000 hectare uien en sjalotten geteeld, waarvan bijna 80% zaaiuien. Deze worden in maart gezaaid en in augustus en september geoogst. Een deel daarvan wordt direct van het land aan de handelaar/verwerker verkocht. De telers slaan het grootste deel van de geoogste uien op, tot uiterlijk half juni van het daaropvolgende jaar. De 2^e jaarsplantuien worden geteeld voor de vroege levering, tussen begin juli en half augustus. Deze uien gaan voor 95% direct naar de handelaars, waar deze aansluitend verwerkt worden. De 1^e jaars plantuien worden begin augustus geoogst, waarbij de ondermaat bij de teler op de grond valt.

4.1.4

Afval

Uienafval (uienpulp) ontstaat vooral bij de **handelaar/verwerker**, omdat hier het schonen, sorteren en lezen⁵ plaatsvindt. De stengel en de buitenste (land)huid worden van de uien afgehaald door de handelaar/verwerker. Het tarrapercentage⁶ bedraagt ongeveer 10%, waarvan naar schatting 2 gewichtsprocent droog materiaal en voor het overige te kleine, misvormde en rotte uien. Het tarrapercentage van de 2^e-jaarsplantuinen is circa 7%. Bij het verwerken van de 1^e-jaarsplantuinen is vooral sprake van grondafval en onder- en bovenmaatse uien.

Bij de verwerker wordt het afval vaak binnen bewaard. Het materiaal wordt vaak gecomposteerd door de verwerker, maar ook wel afgevoerd naar de vergister. Het gecomposteerde materiaal wordt afgezet bij telers, maar wordt soms ook uitgereden op eigen land van de handelaar/verwerker.

Bij de **teler** ontstaat weinig uienafval. Een klein deel van het afval ontstaat tijdens het laden van de uien: uien die vanaf de wagens op het land vallen. Bij het in- en uitschuren ontstaat ook wat afval (naar schatting maximaal 1%). Dit afval bestaat uit ondermaatse uien en vellen. Bij het uitschuren gebeurt dit één of meerdere keren per jaar, afhankelijk van het aantal leveringen. Bij de teler gaat het afval meestal direct het land op. Soms wordt het materiaal eerst in een betonnen bak opgeslagen en wordt het later uitgereden op het land. Afhankelijk van de marktsituatie kan een enkele keer sprake zijn van hopen onverkochte uien op het land. Het is vanaf 15 april wettelijk verplicht om uienafvalhopen af te dekken, om verspreiding van valse meeldauw en koprot te voorkomen:

akkerwijzer.nl/artikel/246636-start-controle-afdekking-afvalhopen.

4.2

Aardappelen

4.2.1

Areaal

In 2020 werd in totaal 165.600 hectare aardappelen geteeld met een opbrengst van 7,0 miljoen ton, waarvan ongeveer de helft consumptieaardappelen (76.700 ha, 3,7 miljoen ton). Circa een kwart van het areaal werd beteeld met pootaardappelen (43.800 ha, 1,5 miljoen ton) en circa een kwart met zetmeelaardappelen (45.100 ha, 1,8 miljoen ton). (CBS Statline 2021a)

4.2.2

Toegelaten azolen

In de aardappelteelt zijn azoolhoudende middelen toegelaten op basis van: difenoconazool, prothioconazool en thiabendazool (Ctgb Toelatingen 2021).

4.2.3

Keten

Bij de aardappelteelt kan onderscheid gemaakt worden tussen de teelt van pootgoed enerzijds en anderzijds de teelt van het eindproduct voor directe consumptie, verwerking tot aardappelproducten en zetmeel.

Pootgoedteelt vindt over het algemeen plaats op aparte bedrijven. Het gewas wordt doodgespoten als de gewenste maatsortering bereikt is. Het loof blijft op het veld achter en wordt klein gemaakt. Tijdens het rooien komt een deel van het afval (losse grond en loof) op de grond. De pootaardappelteler bewaart en sorteert de pootaardappels.

⁵ Lezen is het verwijderen van onbruikbare uien

⁶ Deze tarra betreft uien die niet intact zijn, schade hebben of misvormd zijn.

Bij de **teelt van consumptie- en zetmeelaardappelen** wordt bij 95% het loof voor de oogst doodgespoten. De oogst in september en oktober is vergelijkbaar met die van de pootaardappel-teelt. Een deel van de aardappelen wordt direct afgezet voor consumptie en aan de fabriek, de overige aardappelen worden door de teler ingeschuurd en bewaard. Het seizoen in de fabriek loopt tot eind juli; er is sprake van (vrijwel) jaarrond verwerking.

Zetmeelaardappelen worden vooral geteeld in Groningen en Drenthe. De coöperatie Avebe verwerkt de aardappels tot zetmeel en andere producten. De (verwerkings)campagne loopt van midden augustus tot begin maart of begin mei, afhankelijk van de fabriek. Zetmeelaardappelen worden tussen half augustus en midden november gerooid. De vroegste aardappels worden 'in de kuil' (bult) gelegd en dan opgehaald. Voor een korte bewaarperiode (november – half januari) worden de aardappels afgedekt met stro en fleecedoek en zo op het land bewaard. De aardappels die langer bewaard worden, worden opgeslagen in de schuur (ingeschuurd).

4.2.4

Afval

Bij de **pootgoedteelt** komen op het landbouwbedrijf loof, grond en aardappels vrij bij het sorteren. Dit afval blijft op het bedrijf en wordt weer op het land gebracht. Soms gebeurt dit direct, vaak blijft het enige tijd liggen, in hopen op het erf of op het land.

Bij het inschuren van **aardappelen voor directe consumptie en verwerking** komt het afval (aardappelen, loof en grond) via de stortbak en de band vrij. Het afval gaat terug naar het land en ligt daar enige tijd (variabel) in hopen. Het kan ook op een hoop op het erf gestort worden, om later afgevoerd te worden. Bij het uitschuren gaan de aardappels over een reiniger en komt weer grond en loof vrij. Ook dit afval blijft enige tijd in hopen op het erf of op het land liggen.

Het is wettelijk verboden om na 15 april onafgedekte aardappelafvalhopen te omdat deze hopen een belangrijke potentiële besmettingsbron voor de verspreiding van de aardappelziekte vormen. De NAK controleert of het afdekken plaatsvindt (nak.nl/teeltvoorschriften/phytophthora).

De **aardappelhandelaar** waar monsters genomen zijn, sorteert de aardappelen. Daarbij komt 3-4% grond vrij, < 0,5% loof en 3-4% voeraardappelen. Deze voeraardappelen worden verkocht als veevoer en voor de productie van aardappelvlokken en aardappelzetmeel. Een klein deel (circa 0,1%) van deze voeraardappels gaat naar de vergister.

Grond en loof die vrijkomen bij het sorteren, gaan naar een depot bij de handelaar. Het materiaal in het depot wordt regelmatig omgezet om hergroei van aardappels te voorkomen. Het slib van de aardappelen die gewassen worden, gaat ook naar het depot. Het depotmateriaal ligt 1 tot 3 jaar in de buitenlucht en is niet afgedekt. Het wordt uiteindelijk meestal gebruikt voor de ophoging van percelen bij telers die klant zijn bij de handelaar.

Er zijn ongeveer 90 handelaren die aardappels kopen en verkopen, die bestemd zijn voor pootgoed, consumptie, friet en andere verse aardappelproducten. Hiervan is 90% aangesloten bij de NAO (Nederlandse Aardappel Organisatie). Zoals beschreven komt bij de handel tarragrond vrij bij het sorteren. Tarragrond bestaat voor circa 20 volumepercent uit kleine knolletjes, stukjes aardappel die tijdens de bewerking zijn stukgegaan en vooral: loofresten. Bij de handelaren bestaat deels een situatie zoals bij het bedrijf waar bemonsterd is: een terrein waarop de tarragrond voor langere tijd ligt, deels in een gesloten systeem. In dat laatste geval staat het materiaal in containers in een loods, waar het snel wordt afgevoerd. Aangezien verwerking jaarrond plaatsvindt, is ook jaarrond sprake van afval dat wordt toegevoegd aan de hoop op het terrein, of aan de inhoud van de container. Voor tarragrond die afkomstig is van percelen die besmet waren met aardappelcystenaaltjes, geldt de EU-bestrijdingsrichtlijn tegen aardappelmoehheid (AM) (NVWA Aardappelmoehheid, 2021). Deze verplicht tot een veilige afzet van tarragrond. Een van de maatregelen is dat de aardappelen, die geteeld op AM-besmetverklaarde grond, uitsluitend verwerkt mogen worden door bedrijven die een afzet voor hun tarragrond hebben, zodat verspreiding van het aardappelcystenaaltje naar landbouw-

percelen wordt voorkomen. Deze erkende verwerkers van aardappeltarragrond staan in een register van de NVWA. Er zijn drie manieren om de tarragrond op een toegestane manier te verwerken:

1. Afzet van tarragrond naar een gebruiker van een perceel landbouwgrond, die voor dit doel een AM-besmetverklaring krijgt van de NVWA.
2. Afzet van tarragrond naar een locatie buiten de landbouw, bijvoorbeeld in woonwijken, geluidswallen of natuurgebieden.
3. Behandelen van tarragrond, voorafgaand aan de afzet in of buiten de landbouw, door inundatie (vloeiveld).

Bij het laden van **zetmeelaardappelen** op het land gaan de aardappels door een schoner of reinigingsmachine (zie figuur 1 op de volgende pagina). Het afgescheiden materiaal komt op een hoop te liggen, die voornamelijk bestaat uit rond met loof en (gekneusde) aardappels. Deze hopen worden niet afgedekt. Sommige telers verspreiden de hoop direct over de kopakker en andere laten deze tot na de winter liggen. Een enkele teler rijdt de bulten op een hoop en dekt deze af.



Figuur 1: Laden en schonen van zetmeelaardappelen (Foto: Avebe)

Bij het inschuren van de aardappels vindt ook een reinigingsstap plaats, om met name de grond (met wat aardappels) te verwijderen. Voor het afgescheiden materiaal geldt dezelfde procedure als hiervoor beschreven bij het laden van zetmeelaardappelen op het land.

Bij Avebe kent het reinigingsproces verschillende stappen. De zogenaamde opdrijfwas (die bestaat uit loof, stro en aardappels die drijven) worden verwijderd en gaan in een container. De snipperzever haalt vervolgens deeltjes van aardappels eruit, deze gaan naar een andere container. Daarna worden de rotte en bevroren aardappels verwijderd en in een andere container gedeponerd. De

inhoud van de containers met organisch materiaal gaan - binnen een dag - naar het eigen composteringsterrein. Op het composteringsterrein worden de verschillende componenten uit de diverse containers gemengd en op een plaat in rillen gezet. Tijdens het composteringsproces wordt een temperatuur van 70 – 80 °C bereikt. Het materiaal wordt regelmatig omgezet. Na ongeveer een jaar is de compost klaar om afgezet te worden in de landbouw.

De grondfractie (zand en organisch materiaal) uit de aangevoerde aardappels gaat naar het tarra-ontwateringsveld van Avebe en na verwijderen van het water rijpt de grondfractie hier op ruggen. Het gerijpte materiaal wordt gebruikt voor dijken en geluidswallen (gecontroleerde afzet). In het was- en afvalwater van stap 1 zijn zetmeel- en eiwitresten en stukjes aardappel aanwezig. Eerst vindt een primaire zuivering plaats: de grove delen worden uit het afvalwater gehaald en gaan in een tankauto naar de vergister. Dit materiaal staat in een bak gedurende 6 – 8 maanden onder water bij Avebe. Dan volgt de secundaire zuivering: het water wordt belucht, waardoor secundair slib (organisch materiaal) neerslaat. Dit materiaal, zogenaamde slurry, gaat naar een externe verwerker. Deze slurry heeft een laag drogestofgehalte (circa 5%) en de afvoer vindt continue plaats. Tijdens de verwerking van de zetmeelaardappelen komt het vruchtwater van de aardappel zelf vrij, met daarin eiwitten, vitamines en mineralen; dit vocht wordt gekookt. Het eiwit coaguleert, wordt afgevangen en gedroogd. Dit eiwit is een ingrediënt voor diervoeder. Het vruchtwater, waaruit het eiwit verwijderd is, wordt ingedampt. De protamylase die dan ontstaat, heeft als bestemming diervoeding, de biovergister, grondreiniging en/of kaliumbemesting in de landbouw.

4.3 Suikerbieten

4.3.1

Areaal

In 2020 werd 6,8 miljoen ton suikerbieten geteeld op 81.500 hectare (CBS Statline 2021a).

4.3.2

Toegelaten azolen

Azoolhoudende middelen die in de teelt van suikerbieten zijn toegelaten, zijn: cyproconazool, difenoconazool, epoxiconazool en hymexazool (Ctgb Toelatingen 2021).

4.3.3

Keten

Vrijwel de gehele opbrengst aan suikerbieten, 6,8 miljoen ton, gaat naar de twee suikerfabrieken van coöperatie Cosun Beet Company. Daarnaast zijn er nog wat kleine afnemers, zoals bijvoorbeeld een stroopfabriek in Limburg. Een heel klein deel van de surplusbieten (bovencontractuele opbrengst) wordt afgezet naar vergisters.

4.3.4

Afval

De **teler** rooit de suikerbieten, in de periode half september – eind januari. Het loof blijft daarbij op het veld en wordt ondergewerkt. De bieten liggen na het rooien op een hoop op het erf, of op het land. Deze hopen blijven enkele dagen - tot maximaal 2 maanden - na de rooidatum liggen. Het tarrapercentage is circa 10%. De tarra bestaat voornamelijk uit grond.

In de **suikerfabriek** ontstaat bietenpulp bij de suikerraffinage. Deze bietenpulp is grotendeels bestemd voor veevoer en ligt maximaal één dag bij de fabriek. Deze pulp gaat rechtstreeks naar

veehouders en wordt daar ingekuuld. De vergistingsinstallaties van Cosun gebruiken de resterende 10 – 20% van de bietenpulp. De pulp wordt in afgedekte hopen opgeslagen om de vergisters jaarrond te laten werken. Ook de zogenaamde bietenpunten⁷ worden in de vergistings-installatie tot groengas vergist. Deze puntjes worden binnen in een bunker bewaard.

4.4 Aardbeien

4.4.1

Areaal

In 2020 werden op 2.446 hectare aardbeien geteeld (CBS Statline 2021b), deels voor productie (40%) en deels voor vermeerdering (60%).

4.4.2

Toegelaten azolen

Azoolhoudende middelen die in de teelt van aardbeien zijn toegelaten, zijn: difenoconazool en penconazool (Ctgb Toelatingen 2021).

4.4.3

Keten

Productie van aardbeien vindt plaats in de vollegrond (deels in plastic tunnels), op stellingen en in de kas. De afzet verloopt voor ongeveer de helft via de veiling, de andere helft via een aantal grote afnemers: handelsbedrijven in groenten en fruit. Het uitgangsmateriaal wordt over het algemeen geleverd door gespecialiseerde plantenkweekbedrijven.

4.4.4

Afval

Bij de teelt in de **vollegrond** blijven aan het eind van het groeiseizoen planten en stro op het land achter en die achtergebleven resten worden ondergewerkt.

Bij de **teelt op stellingen en onder glas** staan de planten staan op substraat in bakken en emmers. Substraat bestaat voornamelijk uit veen en/of kokos. Dit substraat wordt over het algemeen 1 jaar gebruikt (bij circa 80% van de telers) en komt vrij in de periode half april – half mei. De vrijgekomen planten en het substraat, afkomstig van stellingen, werden vroeger altijd ondergewerkt onder de stellingen, maar worden tegenwoordig steeds vaker op een hoop gelegd en dan op percelen uitgereden als grondverbeteraar. Aardbeientelers werken de hoop snel weg, vanwege ziekte- en vooral plaagproblemen. Een hoop ligt maximaal ongeveer drie weken. Rotte en misvormde aardbeien worden apart geplukt. Deze worden in bakken en zakken gedaan en worden afgesloten bewaard. Het materiaal wordt vernietigd (ingegraven of vergist) of gaat naar de milieustraat. Dit laatste materiaal betreft heel beperkte volumes.

Bij de **plantenvermeerderaars** ontstaat ook plantafval, zoals te kleine planten en blad, in de periode half november – half januari. Dit materiaal wordt via een lopende band naar een wagen getransporteerd en vervolgens meestal direct naar het land afgevoerd om ondergewerkt te worden. Soms wordt het materiaal op een hoop bewaard, maar niet zo lang (maximaal enkele weken), omdat men hygiënisch wil werken.

⁷ Bietenpunten ook zijn bietenresten, die hoofdzakelijk bestaan uit worteldelen en punten van suikerbieten

5

Resultaten monitoring

In dit hoofdstuk staan de resultaten beschreven van de analyses van de monsters, op azolen en *Aspergillus fumigatus*. De azolenconcentratie is weergegeven in milligram per kilogram. De hoeveelheden gevonden *A. fumigatus* zijn uitgedrukt in Colony Forming Units per gram (CFU/g). Dit is een maat voor het aantal actieve schimmelsporen. Wanneer de hoeveelheid resistente *A. fumigatus* > 1000 CFU/g ligt, betekent dit dat veel resistente schimmel in de afvalhoop aanwezig is. De ligduur die vermeld wordt, is de ligduur op de betreffende locatie. Eventuele vooropslag is in deze tijdsduur niet meegenomen. Het gaat dus om de minimale ligduur.

5.1 Uien

Het monster van afgekeurde uien (foto links, figuur 2 hieronder) bevat geen resistente *A. fumigatus* en geen azolen (zie ook tabel 2 op de volgende pagina.). De uienpulp bij de verwerker (foto rechts, figuur 2 hieronder) bevat een beperkt gehalte aan resistente *A. fumigatus* en azolen (zie ook tabel 2 op de volgende pagina). De pulp bevat azolen en heeft een ligduur van maximaal 7 dagen.



Figuur 2: Foto links: uitgeselecteerde uien met beschadiging bij een verwerker (geen *A. fumigatus*)
Foto rechts: uienpulp bij een verwerker (enige *A. fumigatus*)

Onderzoek naar *Aspergillus fumigatus* in de land- en tuinbouwketen

Tabel 2: Kenmerken (inclusief ligduur en temperatuur) en locaties uienafval, totale aantallen (T) en resistente (R) *Aspergillus* (CFU/g), resistentie (%) en totale concentratie Azolen (gemiddelde van 2 monsters)

Uienafval	Locatie	Kenmerk	Ligduur (dagen)	Temperatuur (° Celsius)	Aspergillus (T)	Aspergillus (R)	Resistentie (%)	Azolen (mg/kg)
Afgekeurde uien	Uienverwerker	Uien	3	14	120	-	0	0,00
Uienpulp	Uienverwerker	Pulp	7	14	7.320	1.230	17	0,46
Uienafval	Uienteler	Rotte uien	35	5	1.582.200	14.280	1	0,02
Uienafval	Uienteler	Rotte uien	365	12	11.880.000	8.220.000	69	0,16

Het uienafval met rotte uien bevat zowel azolen als hoge aantallen *A. fumigatus* (zie tabel 2 hierboven). Met name het afval dat meer dan een jaar op een landbouwperceel van een akkerbouwer ligt, (figuur 3 hieronder, foto rechts), bevat zeer hoge aantallen (> 8 miljoen CFU/g) en een hoog percentage resistentie. De aantallen in de rotte uien die een maand liggen bij de teler (figuur 3, foto links) zijn lager, maar ook nog steeds aanzienlijk.



Figuur 3: Foto links: uienafval met een ligduur van 35 dagen bij een akkerbouwer (resistente *A. fumigatus*)
Foto rechts: uienafval met een ligduur van meer dan een jaar bij een akkerbouwer (resistente *A. fumigatus*)

5.2 Aardappelen

De monsters van biologisch aardappelafval dat binnen was opgeslagen en daar één dag lag (figuur 4 hiernaast) bevat nauwelijks (resistente) *A. fumigatus* en geen azolen (zie ook tabel 5.2 op de volgende pagina).

Ook de monsters van aardappelafval dat tussen 60 en 75 dagen buiten lag (figuur 5, hieronder, foto's links, midden en rechts) bevatten nauwelijks (resistente) *A. fumigatus*, in twee gevallen wel azolen en in één geval (bij de biologische teler) geen azolen.

Figuur 4: Bij een verwerker binnen opgeslagen aardappelafval



Figuur 5 Bij een verwerker buiten opgeslagen aardappelafval.

Foto links en midden: 2 maanden, foto rechts: 2,5 maand

Opmerkelijk is dat de monsters van aardappelafval dat 90 dagen buiten lag bij een verwerker (figuur 6 hiernaast) wel hoge aantallen resistentie bevatten. Het bemonsterde materiaal was atypisch, in vergelijking met het andere aangetroffen materiaal: veel fijner qua structuur, zie voorgrond op de foto. Deze monsters bevatten ook azolen (zie ook tabel 3 op de volgende pagina). Deze monsters bevatten sowieso hoge aantallen *A. fumigatus*, in tegenstelling tot de andere monsters van aardappelafval.

Figuur 6: Aardappelafval dat 90 dagen bij een verwerker buiten heeft gelegen



Tabel 3: Kenmerken (inclusief ligduur) en locaties aardappelafval, totale aantallen (T) en resistente (R) *Aspergillus* (CFU/g), resistentie (%) en totale concentratie Azolen (gemiddelde van 2 monsters), materiaalt temperatuur 3 ° Celsius

Aardappel-afval	Locatie	Kenmerk	Ligduur (dagen)	Aspergillus (T)	Aspergillus (R)	Resistentie (%)	Azolen (mg/kg)
Grond, loof, aardappel	Akkerbouwer, gangbaar	Buiten	75	480	180	38	0,02
Grond, loof, aardappel	Akkerbouwer, biologisch	Binnen in kist	1	480	270	56	0,00
Grond, loof, aardappel	Akkerbouwer, biologisch	Buiten	60	1.620	120	7	0,00
Grond, loof, aardappel	Handel	Buiten	90	16.380.000	2.970.000	18	0,06
Grond, loof, aardappel	Handel	Buiten	60	540	240	44	0,07

5.3 Suikerbieten

De monsters van suikerbieten die op een akkerbouwbedrijf waren opgeslagen, voordat transport naar de fabriek plaats-vond, bevatten nauwelijks resistente *A. fumigatus* en geen azolen (zie tabel 5.3 op de volgende pagina). Deze suikerbieten staan op de foto (figuur 7 hiernaast).



Figuur 7: Suikerbieten die 30 dagen buiten liggen bij een akkerbouwer

Grovere en fijnere bietenpunten, die bij de bieten-verwerker opgeslagen liggen voordat vergisting plaatsvindt, (figuur 8 op de volgende pagina, respectievelijk foto links en rechts), bevatten azolen en alleen lage aantallen resistente *A. fumigatus* (zie ook tabel 4 hieronder).

Tabel 4: Kenmerken (inclusief ligduur) en locaties suikerbieten(afval), totale aantallen (T) en resistente (R) *Aspergillus* (CFU/g), resistentie (%) en totale concentratie Azolen (gemiddelde van 2 monsters)

Suikerbieten en -afval	Locatie	Kenmerk	Ligduur (dagen)	Aspergillus (T)	Aspergillus (R)	Resistentie (%)	Azolen (mg/kg)
Bieten	Akkerbouwer	Bietenhoop	30	420	300	71	0,00
Bietenpunten	Fabriek	Fijn	1	1.200	60	5	0,12
Bietenpunten	Fabriek	Grof	1	12.000	870	7	0,04



Figuur 8: Grovere (foto links) en fijnere (foto rechts) bietenpunten die opgeslagen liggen bij de verwerker

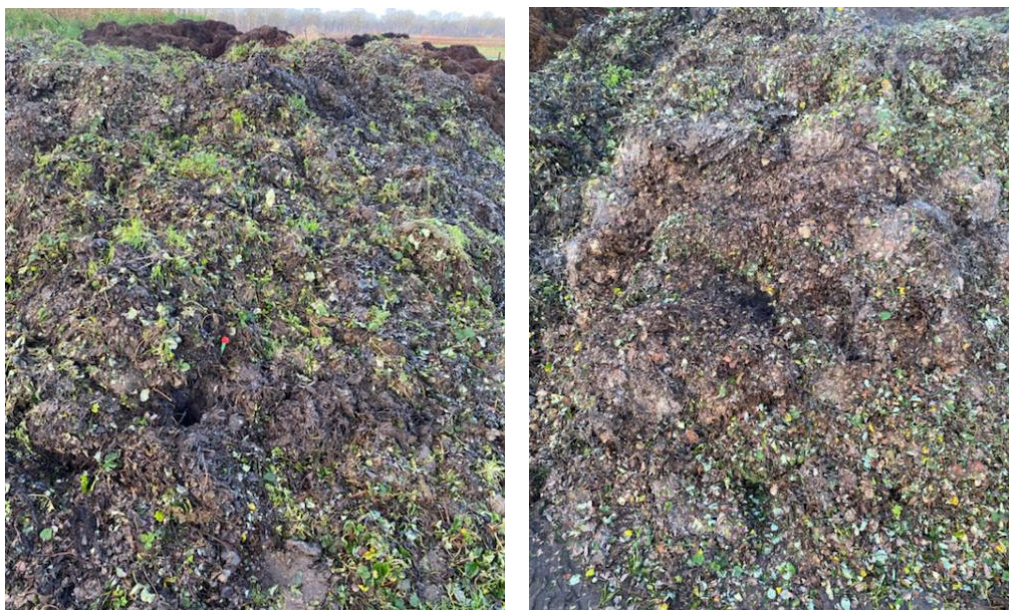
5.4 Aardbeien

De monsters van aardbeienafval, dat gedurende vijf tot zeven dagen op een aardbeienvermeerderingsbedrijf lag opgeslagen (figuur 9 op de volgende pagina, foto links en rechts) bevatten aanzienlijke hoeveelheden resistente *A. Fumigatus* en ook azolen (zie ook tabel 5 hieronder).

Ook de monsters van aardbeienafval dat op hetzelfde aardbeienkweekbedrijf was opgeslagen, gedurende 120 dagen (figuur 10 op de volgende pagina) bevatten aanzienlijke hoeveelheden resistente *A. Fumigatus* en ook azolen (zie ook tabel 5 hieronder).

Tabel 5: Kenmerken (inclusief ligduur en temperatuur) aardbeienafval bij kwekers, totale aantallen (T) en resistente (R) *Aspergillus* (CFU/g), resistentie (%) en totale concentratie Azolen (gemiddelde van 2 monsters)

Aardbeienafval	Kenmerk	Ligduur (dagen)	Temperatuur (° Celsius)	Aspergillus (T)	Aspergillus (R)	Resistentie (%)	Azolen (mg/kg)
Loof buitenteelt	Buiten	7	19	3.420.000	734.100	21	0,33
Loof kasteelt	Buiten (uit kas)	5	31	27.420.000	585.300	2	0,42
Loof buitenteelt	Buiten	120	7	29.100.000	4.260.000	15	0,08



Figuur 9: afvalhopen van aardbeienplanten, foto links ligduur 7 dagen, foto rechts ligduur 5 dagen.



Figuur 10: Aardbeienafval dat 120 dagen buiten ligt bij een aardbeiplantenkweker

6

Reflectie

6.1

Aantreffen (resistente) *Aspergillus*

Aspergillus fumigatus is een schimmel die **organisch materiaal** afbreekt. De schimmel bleek in dit onderzoek voor te komen in bijna alle monsters die geanalyseerd zijn (97%), soms in lage aantallen, soms zeer hoog. In 50% van de monsters is sprake van resistente *A. fumigatus* in aantallen boven de 1000 CFU/g. In de monsters varieerde de **temperatuur** tussen 5 en 31 graden Celsius. Dit laat zien dat de schimmel ook bij lage temperatuur (< 10 °C) nog in hoge aantal aanwezig kan zijn. In eerdere monitoring in groenafval werd bij de laagst gemeten temperatuur (11 °C) hoge gehalten (resistente) *A. fumigatus* aangetroffen (Leendertse et al. 2021b).

6.2

Resistentiebepaling en heterogeniteit

Resistentiebepaling in monsters vindt plaats door toepassing van itraconazool en tebuconazool. Metingen van resistentie met itraconazool geven in de monsters niet altijd dezelfde uitkomsten als meten met tebuconazool. Ook in eerdere studies (Schoustra et al. 2019a) in bollenafval is dit geconstateerd. Dit heeft te maken met de heterogeniteit van de monsters en met het feit dat de kruisresistentie tussen verschillende azolen niet 100% is. Resistentie tegen het ene azool, betekent niet automatisch exact dezelfde mate van resistentie tegen een ander azool. Dat is de reden dat twee azolen worden gebruikt bij het bepalen van aantallen en percentages resistentie.

6.3

Vergelijking met internationale bevindingen

Ook in internationale studies zijn sporen van resistente *Aspergillus fumigatus* aangetroffen, met name in aardbeienpercelen in China (Chen et al. 2020) en op uien die in de winkel waren gekocht (Croplife international 2020, Fraaije et al. 2021). Deze internationale onderzoeken waren overigens niet specifiek gericht op afvalhopen.

6.4

Land- en tuinbouwafval en vergisting

In deze studie is sprake van vergisting van land- en tuinbouwafval, meer specifiek van uien en bieten. Bij uien wordt de uienpulp vergist. De uienpulp bij de verwerker bevatte – voordat vergisting plaatsvond - verhoogde aantallen resistentie (1.230 CFU/g) bij de maximale bewaartijd

van 7 dagen. Bij bieten vindt vergisting van bietenpunten plaats; de punten bleken maximaal 870 CFU/g te bevatten, bij een bewaartijd van een dag (voordat vergisting plaatsvond). In beide gevallen zijn azolen aangetroffen en was het helaas niet mogelijk het vergiste materiaal te onderzoeken. De verwachting is dat na vergisting geen *A. fumigatus* meer aanwezig is. De bevindingen komen goed overeen met de eerder uitgevoerde studie naar hout-en groenafval (Leendertse et al. 2021b). Daar bleek land- en tuinbouwafval, dat was verzameld om vergist te worden, soms ook resistente *A. fumigatus* te bevatten. En wel bij bollenafval (zeer hoog, 19.500 CFU/g), graanresten (1.200 CFU/g) en tuinbouwafval (1.710 CFU/g). Ook GFT-afval bevatte enige resistentie (540 CFU/g). Na vergisting was in alle gevallen geen *A. fumigatus* meer aanwezig. Het bollen- en GFT-afval en het vergist materiaal bevatten sporen van azolen. Deze azolen waren afkomstig van het gebruik in de bollen- en groente- en fruitteelt.

7

Conclusies en aanbevelingen

7.1 Conclusies

1. Afvalhopen van rotte **uien** bevatten zowel azolen als zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus fumigatus*. Met name het afval dat meer dan een jaar op een landbouwperceel van een akkerbouwer ligt bevat zeer hoge aantallen (> 8 miljoen CFU/g) met een resistentiepercentage van 69%. De aantallen in het rotte uienafval dat een maand bij de teler ligt, zijn lager maar nog steeds aanzienlijk (> 14.000 CFU/g). Deze twee afvalhopen zijn hotspots voor het ontstaan en de ontwikkeling van azoolresistente *A. fumigatus*.
Uienpulp bij een verwerker bevat verhoogde aantallen resistentie (1.230 CFU/g) bij de maximale bewaartijd van 7 dagen. Op afgekeurde uien zelf is geen resistentie aangetroffen.
2. Ook in afvalhopen van **aardbeienplanten** zijn zowel azolen als zeer hoge aantallen resistente *Aspergillus fumigatus* aangetroffen. Het materiaal, met een ligtijd van 120 dagen, bevat zeer hoge aantallen resistentie (> 4 miljoen CFU/g). De aantallen in het aardbeienafval dat 5 en 7 dagen op de afvalhoop ligt, zijn ook hoog (734.000 respectievelijk 585.000 CFU/g). Deze drie afvalhopen zijn hotspots voor het ontstaan en de ontwikkeling van azoolresistente *A. fumigatus*.
3. In afvalhopen van **consumptie-aardappelen**, met vooral grond en loof, zijn azolen aangetroffen en voornamelijk lage aantallen resistente *Aspergillus fumigatus*. In één van de monsters waarbij vooral sprake was van fijn organisch materiaal, zijn zeer hoge aantallen resistente *A. fumigatus* aangetroffen (> 4 miljoen CFU/g). Deze afvalhoop is een hotspot voor de ontwikkeling van azoolresistente *A. fumigatus*.
4. In **suikerbieten** die bij een akkerbouwer waren opgeslagen, zijn lage aantallen resistente *A. fumigatus* aangetroffen. Ook in de bietenpunten, die bij de verwerker lagen, zijn de gehalten laag.
5. In de uien- en bietenketen is sprake van **vergiftiging**. Bij de uien wordt de uienpulp vergist. De uienpulp bij de verwerker bevatte -voordat vergisting plaatsvond -verhoogde aantallen resistentie (1.230 CFU/g). Bij de bieten vindt vergisting van de bietenpunten plaats, de bemonsterde punten bleken, voordat vergisting plaatsvond, maximaal 870 CFU/g te bevatten. Voor zowel uien als bieten was het helaas niet mogelijk het vergiste materiaal te onderzoeken. De verwachting is dat na vergisting geen *A. fumigatus* meer aanwezig zal zijn, zoals bleek in eerder monitoringsonderzoek door CLM.

6. In de ketens van uien en consumptie-aardappelen, is de relevante afvalopslag van deze gewassen, na oogsten en verwerken, bemonsterd en geanalyseerd. Voor uien betreft dit de opslaghoppen met rotte uien bij de teler, uienpulp die bij de handelaar vrijkomt bij schonen en afgekeurde uien die zijn opgeslagen bij de handelaar.
Voor aardappelen zijn het de opslaghoppen van loof, grond en kleine aardappelen, die ontstaan tijdens het inschuren bij de teler, of tijdens de verwerking bij de handelaar. Deze afvalhoppen blijven vaak langere tijd (maanden) liggen, voordat ze worden teruggebracht naar - en uitgereden over - landbouwpercelen.
7. In de ketens van bieten en aardbeien is slechts een deel van de relevante opslag, van deze gewassen, na oogsten en verwerken, bemonsterd en geanalyseerd. Voor bieten is een opslaghoop bij een teler bemonsterd, evenals de bietenpunten die bij de fabriek waren opgeslagen, voordat deze werden vergist. De bietenpulp kon in de monsterperiode helaas niet bemonsterd. De bemonstering voor aardbeien heeft plaatsgevonden bij een aardbeienvermeerderaar, omdat daar in de monsterperiode (winter 2020/2021) afvalopslag aanwezig was.

7.2 Aanbevelingen

1. In deze verkenning konden een beperkt aantal locaties en afvalhoppen onderzocht worden. De locaties en uitkomsten geven een eerste overzicht en inzicht in hotspots. Aanbeveling is om gericht een vervolgonderzoek uit te voeren om de bevindingen in deze verkenning te bevestigen, en de niet bemonsterde afvalopslag in de keten van suikerbieten en aardbeien alsnog te bemonsteren.
2. We bevelen telers en verwerkers aan om uit voorzorg geen afvalhoppen te maken of aan te houden, zoals nu met de rotte uienhoppen en de aardbeienafvalhoppen wel het geval was. Dat kan door dit afval direct over het land te verspreiden of te verwerken. Dit voorkomt namelijk het ontstaan van grote aantallen azoolresistente *Aspergillus fumigatus*. Het is mogelijk om hiervoor aan te sluiten bij het protocol voor bollenafval. Dit bollenafvalprotocol is opgesteld door het Ctgb en schrijft voor dat azoolhoudend afval moet worden afgedekt en maximaal twee weken mag worden opgeslagen. Het mag aansluitend worden vergist, verbrand of gecomposteerd en uitgereden. Voor aardappel- en uienhoppen geldt al de wettelijke verplichting deze hoppen na 15 april af te dekken. Ook hierbij kan worden aangesloten, waarbij het advies is het afdekken ook vóór 15 april uit te voeren.
3. Het stoppen met het gebruik van azoolhoudende gewasbeschermingsmiddelen is een andere methode om de ontwikkeling van resistente *Aspergillus fumigatus* in afvalhoppen te verminderen of voorkomen. Hierbij is de vraag in hoeverre deze groep van schimmelbestrijders in de gewasbescherming gemist kan worden voor deze gewassen. Daar waar dit mogelijk is, lijkt dit een effectieve maatregel. Wel zijn er aanwijzingen dat in land- en tuinbouwfal zonder azolen toch inwaaier van resistente sporen kan plaatsvinden. In welke mate dit een rol speelt is nog onbekend.
4. We adviseren, via monitoring, te toetsen of aangepaste methodes van afvalverwerking afdoende zijn om de ontwikkeling van hoge aantallen azoolresistente *Aspergillus fumigatus* te voorkomen.

5. Vanwege de hoge aantallen azoolresistentie *Aspergillus fumigatus* in het aardbeienafval, adviseren we ook verder onderzoek te doen in andere vollegrondsgroenten zoals kolen. Ook daar is namelijk sprake van zowel azolengebruik in de teelt als van opslag van plantafval na de oogst.
6. Het advies is van de monsters met resistente *Aspergillus fumigatus* uit deze studie de DNA-sequenties te analyseren om te bepalen of de gevonden sequenties overeenkomen met de in patiënten aangetroffen resistentie.

Referenties

- CBS Statline, Akkerbouwgewassen; productie naar regio
<https://opendata.cbs.nl/statline/#/CBS/nl/dataset/7100oogs/table?fromstatweb>
(geraadpleegd 11 februari 2021a).
- CBS Statline, Gewassen, dieren en grondgebruik naar regio
<https://opendata.cbs.nl/statline/#/CBS/nl/dataset/80780ned/table?ts=1613045158503>
(geraadpleegd 11 februari 2021b).
- Chen, Y., F. Dong, J. Zhao, H. Fan, C. Qin, R. Li, P. Verweij, Y. Zheng, L. Han 2020, High azole resistance in *Aspergillus fumigatus* isolates from strawberry fields, China, 2018. *Emerging Infectious Diseases* 26: 81-89.
- Croplife international, 2020. Summary of the Rothamsted research project “Understanding the sources and spread of azole resistance in environmental *Aspergillus fumigatus* populations”, Rothamsted Research, Harpenden.
- Ctgb Nieuws 2021. <https://www.ctgb.nl/actueel/nieuws/2021/02/25/strengere-regels-voor-gebruik-azolen-in-bollenteelt> (geraadpleegd 8 april 2021).
- Ctgb Toelatingen <https://toelatingen.ctgb.nl/nl/authorisations> (geraadpleegd 10 februari 2021, trefwoorden: uien, aardappelen, suikerbiet, aardbei, fungicide).
- Fraaije, B., S. Atkins, S. Hanley, A. Macdonald and J. Lucas 2020. The Multi-Fungicide Resistance Status of *Aspergillus fumigatus* Populations in Arable Soils and the Wider European Environment. *Frontiers in Microbiology* 11: 1-17.
<https://www.akkerwijzer.nl/artikel/246636-start-controle-afdekking-afvalhopen/>
<https://www.nak.nl/teeltvoorschriften/phytophthora/>
- Kemoui, E.K., A. Nyerere, C.C. Bii 2018. Triazole-resistant *Aspergillus fumigatus* from fungicide-experienced soils in Naivasha Subcounty and Nairobi county, Kenya. *International Journal of Microbiology*. Volume 2018, Article ID 7147938.
- Leendertse, P.C., A. J. van der Wal, L.C.N. Vlaar, W. J. van der Weijden, W.J.G. Melchers, and P. E. Verweij 2015. The use of azole fungicides in the Netherlands and preliminary indications of hot spots. *Academy Colloquium Fungicides and azole resistance selection*. KNAW-meeting 2-3 March 2015, Amsterdam.
- Leendertse, P.C., R. Gommer, J. van Beek 2021a, Groen- en houtafval als bron van azolen-resistente schimmel *Aspergillus fumigatus*, deel A: deskstudie. CLM-rapport 1065, Culemborg. English summary included.
- Leendertse, P.C., R. Gommer, J. van Beek 2021b, Groen- en houtafval als bron van azolen-resistente schimmel *Aspergillus fumigatus*, deel B: monitoring. CLM-rapport 1066, Culemborg. English summary included.

NVWA Onderwerpen, Aardappelmoehheid

<https://www.nvwa.nl/onderwerpen/aardappelmoehheid/tarragronde-en-afzet-aardappelen>,
(geraadpleegd 19 april 2021).

Schoustra, S.E., J. Zhang, B.J. Zwaan, A.J.M. Debets, P. Verweij, D. Buijtenhuijs en A.G. Rietveld 2019a. New insights in the development of azole-resistance in *Aspergillus fumigatus*, The Netherlands. RIVM Letter report 2018-0131, Bilthoven.

Schoustra, S.E., A.J.M. Debets, A. J.M.M. Rijs, J. Zhang, E. Snelders, P. C. Leendertse, W. J.G. Melchers, A.G. Rietveld, B. J. Zwaan en P. E. Verweij 2019b. Environmental hotspots for azole resistance selection of *Aspergillus fumigatus*, The Netherlands. Emerging Infectious Diseases 25: 1347-1353.

Verweij, P. E., Rietveld, A. Melchers, W. Leendertse, P.C. Hoftijser, E. en B.J. Zwaan (2017) Azole-resistance selection in *Aspergillus fumigatus* –final report-. In: Report on research commissioned by Netherlands Ministries of Health and of Agriculture. CLM, Wageningen University, Radboudumc, RIVM, Utrecht.

Verweij, P. E., J. A. Lucas, M. C. Arendrup, P. Bowyer, A. J.F. Brinkmann, D.W. Denning, P. S. Dyer, M.C. Fisher, P.L. Geenen, U. Gisi, D. Hermann, A. Hoogendijk, E. Kiers, K. Lagrou, W. J.G. Melchers, J. Rhodes, A.G. Rietveld, S.E. Schoustra, K. Stenzel, B.J. Zwaan & B. A. Fraaije (2020). The one health problem of azole-resistance in *Aspergillus fumigatus*: current insights and future research agenda. Fungal biology review 34: 202-214.

Wal van der, A.J., L. Vlaar, P.C. Leendertse, P. E. Verweij, W. Melchers en T. Rijs 2014. Verkenning resistentie-ontwikkeling van de schimmel *Aspergillus fumigatus*. CLM rapport 855, Culemborg.

Bijlage: Geïnterviewde personen

Contactpersoon	Teelt	Organisatie
Jos van Hamont	aardbeien	Delphy
Jan Moerland	aardappelen	Nedato
Luc Remijn	uien	Delphy
Jan Willem van Roessel	suikerbieten	IRS
Willem Rus	aardappelen	Avebe

CLM Onderzoek en Advies

Postadres

Postbus 62
4100 AB Culemborg

Bezoekadres

Gutenbergweg 1
4104 BA Culemborg

T 0345 470 700

www.clm.nl