

Medicijnresten en antimicrobiële resistentie in het watermilieu

Daniel João Duarte (KWR Water)

Geneesmiddelengebruik kan leiden tot milieuvervuiling en antimicrobiële resistentie. In dit artikel zijn de isico's van farmaceutische vervuiling voor de waterdieren en de mens beoordeeld. De farmaceutische concentraties en menselijke activiteiten in de grensoverschrijdende rivier de Vecht werden als casestudy gebruikt. Daarnaast is de selectieve druk van antibiotica op antibioticaresistentiegenen onderzocht in kunstmatige en natuurlijke omgevingen. Het onderzoek benadrukt het belang van risicobeoordeling voor het bedenken van strategieën om emissies en blootstelling te verminderen en daarmee de verantwoordelijke autoriteiten te helpen. Dit onderzoek bevordert ook de risicobeoordeling van geneesmiddelen en antimicrobiële resistentie in het milieu.

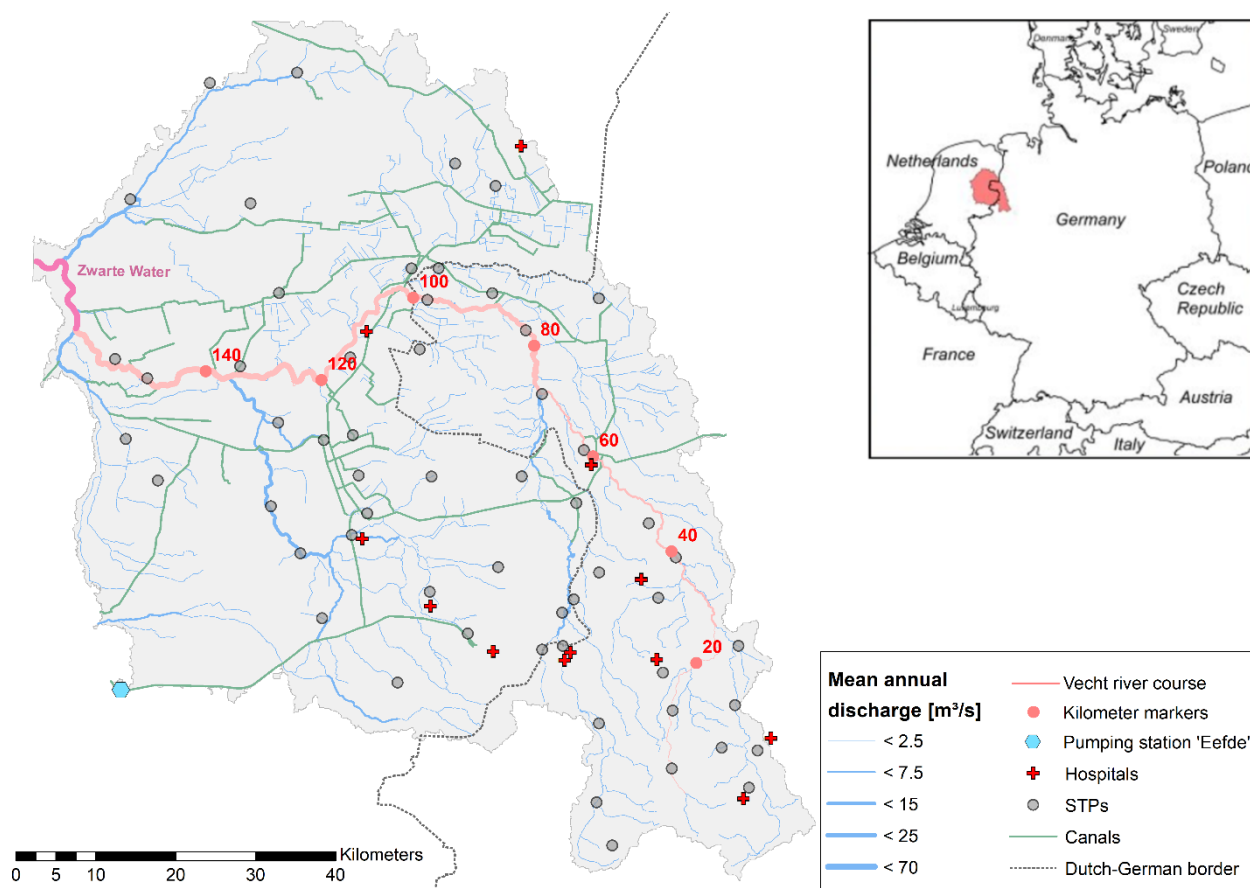
In de Europese Unie zijn ongeveer 1000 unieke 'actieve farmaceutische ingrediënten', (API's, de werkzame stoffen in geneesmiddelen) bekend, die samen 1500 geneesmiddelen op de Europese markt vormen. Alleen al in 2021 hebben 104 geneesmiddelen voor menselijk en diergeneeskundig gebruik een positief advies gekregen voor markttoelating [1]. Samen bevatten deze 60 nieuwe werkzame stoffen.

De farmaceutische residuen die het menselijk lichaam verlaten, als moederbindingen en/of metabolieten (afbraakproducten) in urine en ontlasting, vinden vaak hun weg naar het stedelijk rioolwater en een afvalwaterzuiveringsinstallatie (AWZI) voordat ze de eindontvanger, de natuurlijke omgeving, bereiken. AWZI's hebben echter een beperkt vermogen om farmaceutische producten te verwijderen. Hierbij worden grote verschillen binnen en tussen landen waargenomen, evenals tussen stoffen [2], [3]. Wereldwijd zijn API's op alle continenten aangetroffen, in afvalwater, oppervlaktewater, drinkwater, grondwater, bodems, sedimenten, planten en dieren [4], [5], [6]. In Nederland komt volgens conservatie schattingen per jaar het gewichtsequivalent van een Boeing 747-vliegtuig (ca. 190.000 kg) aan medicijnresten in het water terecht [7], [8]. Nu er steeds meer geneesmiddelen op de markt komen en ze bovendien in toenemende volumes worden gebruikt, zullen de emissies en hun persistentie in het milieu nog vele jaren blijven voortduren [9].

Medicijnresten in het milieu zijn aantoonbaar in verband gebracht met directe effecten op de natuur. Bijvoorbeeld met veranderingen in de samenstelling en functie van de natuurlijke microbengemeenschap, verstoring van het vermogen van algen om rotsen te koloniseren, het (te) vroege verschijnen van waterinsecten, feminisering van mannelijke vissen en massale sterfte van gieren [10], [11], [12]. De gevolgen voor de menselijke gezondheid blijven onderwerp van voortdurend debat en wetenschappelijk onderzoek. Het beoordelen van de risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu als gevolg van medicijnen is dus van cruciaal belang. Bovendien moeten complexe overwegingen met betrekking tot de indirecte effecten van medicijnresten worden onderzocht, zoals bij de ontwikkeling van antimicrobiële resistentie (antibioticaresistentie).

Het hier beschreven onderzoek was daarom gericht op het bevorderen van de risicobeoordeling van farmaceutische vervuiling voor mens en milieu, waarbij rekening wordt gehouden met variaties in de tijd, in de ruimte en tussen individuen [13]. Ruim 60 procent van de Europese Unie wordt bedekt door

grensoverschrijdende stroomgebieden en 70 procent van de Europese stroomgebieden wordt gedeeld door twee of meer landen. De Duits-Nederlandse grensoverschrijdende rivier de Vecht is gebruikt als casestudygebied van bijzonder belang vanwege de sterke en diverse invloed van antropologische stressoren en het transnationale karakter ervan (zie afbeelding 1). Daarnaast werden ook de lokale en mondiale relaties tussen antimicrobiële resistentie en antibioticavervuiling onderzocht.



Afbeelding 1. Stroomgebied van de Vecht. Kilometerpalen starten bij de samenvloeiing van de zijrivieren Burloer Bach en Rockeler Muhlenbach. RWZI's = rioolwaterzuiveringsinstallaties

Risicobeoordeling van geneesmiddelen voor de menselijke gezondheid

Er bestaat wetgeving die tot doel heeft de menselijke gezondheid te beschermen tegen mogelijke schadelijke effecten van waterverontreinigende stoffen, waaronder API's. Toch lijken deze regelgeving en andere initiatieven onvoldoende met elkaar geïntegreerd en ontbreken er nog steeds gedetailleerde richtlijnen om specifiek de risico's voor de menselijke gezondheid van API's te beoordelen. Daarom kunnen lokale en regionale waterbeheerders en risicobeoordelaars worstelen met de vraag of de gezondheid op bepaalde locaties voldoende wordt beschermd. Kunnen de risico's voor de mens van medicijnresten en hun mengsels via drinkwater, zwemmen en vissen in een grensoverschrijdend stroomgebied onaanvaardbaar en levenslang zijn?

Om deze vraag te beantwoorden zijn systematisch de levenslange risico's voor de menselijke gezondheid beoordeeld die worden veroorzaakt door vijftien individuele actieve API's en hun mengsels die voorkomen

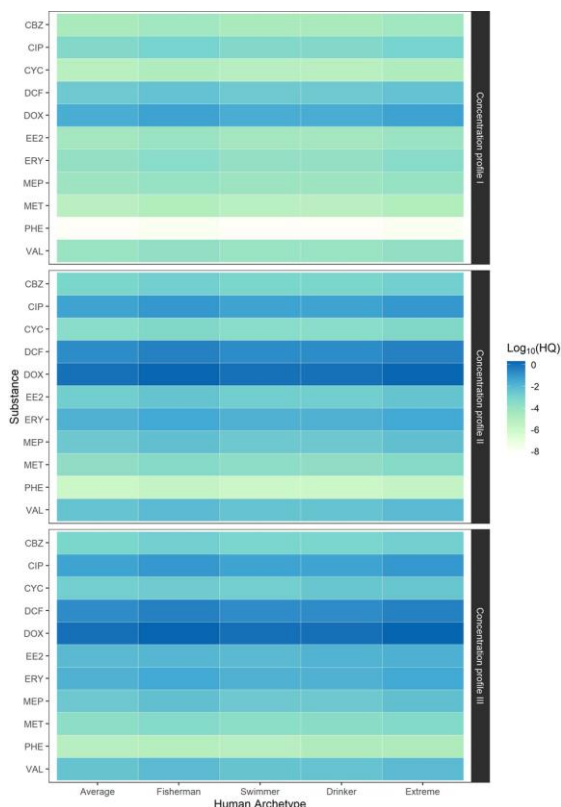
in de Vecht. Er is een blootstellingsmodel ontwikkeld en gebruikt om de gecombineerde risico's van orale en dermale (via de mond en via de huid) blootstelling onder verschillende blootstellings- en gedragsomstandigheden te beoordelen [14]. De volgende concentratieprofielen en gedragsarchetypes werden gebruikt:

Concentratieprofielen:

- gemiddelde oppervlaktewaterconcentraties en nul-drinkwaterconcentraties
- maximale oppervlaktewaterconcentraties en nul-drinkwaterconcentraties
- maximale oppervlaktewaterconcentraties en drinkwaterconcentraties gelijk aan de analytische kwantificeringslimiet

Menselijke archetypen:

- 'Gemiddelde': volwassenen wier gedrag binnen het typische bereik van te verwachten gedrag van de meerderheid van de bevolking valt
- 'Visser': volwassen met een hoge consumptie van in de Vecht gevangen vis
- 'Zwemmer': volwassenen die veelvuldig zwemmen in de Vecht
- 'Drinker': volwassenen die zich onderscheiden van het 'gemiddelde' archetype door hun ongewoon hoge consumptie van drinkwater dat geheel of gedeeltelijk uit de Vecht komt
- 'Extreem': volwassenen met gecombineerde kenmerken van de archetypen 'Visser', 'Zwemmer' en 'Drinker'



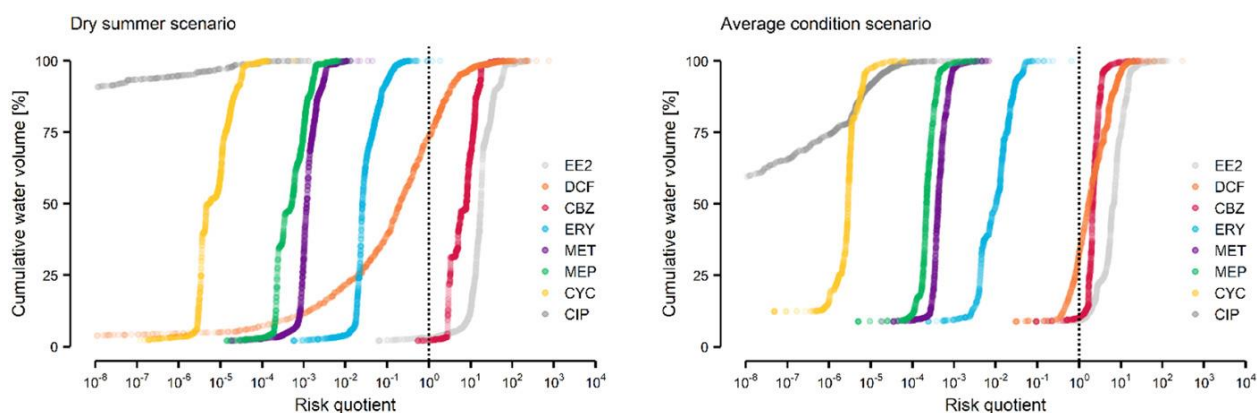
Afbeelding 2. Levenslange gevarenquotiënten (HQ) voor de menselijke gezondheid van bestudeerde geneesmiddelen in het stroomgebied van de Vecht. Actieve farmaceutische ingrediënten: carbamazepine (CBZ), ciprofloxacine (CIP), cyclofosfamide (CYC), diclofenac (DCF), doxycycline (DOX), 17 α -ethinyloestradiol (EE2) erytromycine (ERY), metoprolol (MEP), metformine (MET), fenazon (PHE), valsartan (VAL), hazard quotient (HQ)

In totaal werden 4500 API-opnamewaarden en 165 levenslange risicowaarden geschat voor respectievelijk 15 en 11 API's. Voor andere API's ontbreekt voldoende gedetailleerde informatie, zoals veiligheidsdrempelwaarden.

Uit het onderzoek blijkt dat de risico's voor de menselijke gezondheid als gevolg van directe blootstelling aan medicijnresten in het stroomgebied van de Vecht laag zijn (zie afbeelding 2). Extreme blootstellingsomstandigheden kunnen echter tot onaanvaardbare risico's leiden, meestal veroorzaakt door hoge concentraties in het milieu en hoge visconsumptie. In andere regio's van de wereld worden medicijnen in veel hogere concentraties aangetroffen, wat erop wijst dat er op die locaties het gezondheidsrisico waarschijnlijk hoger is.

Milieurisicobeoordeling van farmaceutische producten

Ecosystemen staan onder toenemende farmaceutische druk, met verbazingwekkende gevolgen voor wilde dieren. Ongeveer 10 procent van de farmaceutische producten op de Europese markt vormen vermoedelijk een aanzienlijk milieurisico. Met dit in gedachten werd onderzocht of medicijnresten en hun mengsels een onaanvaardbaar risico vormen voor het zoetwatersysteem van een grensoverschrijdende rivier. Om deze vraag te beantwoorden zijn ecologische risicoprofielen gedefinieerd voor oppervlaktewaterconcentraties van acht actieve stoffen: carbamazepine, ciprofloxacin, cyclofosfamide, diclofenac, erytromycine, 17 α - ethinylestradiol, metformine en metoprolol in de Vecht [13]. Om dit te bereiken zijn API-concentraties in oppervlaktewater gegeorefereerd (geometrisch correct aan een locatie gebonden) en geschat, nieuwe veilige omgevingslimieten (d.w.z voorspelde concentraties zonder effect, PNEC's) afgeleid voor zeven van de bestudeerde API's, en gedetailleerde, ruimtelijk expliciete (gekoppeld aan specifieke locaties), ecologische risicoprofielen van API's gemaakt onder twee verschillende waterstromingsscenario's (gemiddelde toestand en droge zomer).



Afbeelding 3. Percentage van het stroomwatervolume van de Vecht dat risico loopt op farmaceutische vervuiling in het milieu. De verticale zwarte stippellijn geeft de veilige drempel aan, risicoquotient = 1 (dwz voorspelde concentraties in de omgeving = voorspelde concentratie zonder chronisch effect). Elk punt geeft het relatieve watervolume weer van een segment van ≤ 2 km. In het droge zomerscenario worden concentraties ciprofloxacin $< 10^{-8}$ eveneens niet weergegeven. EE2: 17 α - ethinylestradiol; DCF: diclofenac; CBZ: carbamazepine; ERY: erytromycine; MET: metformine; MEP: metoprolol; CYC: cyclofosfamide; CIP: ciprofloxacin

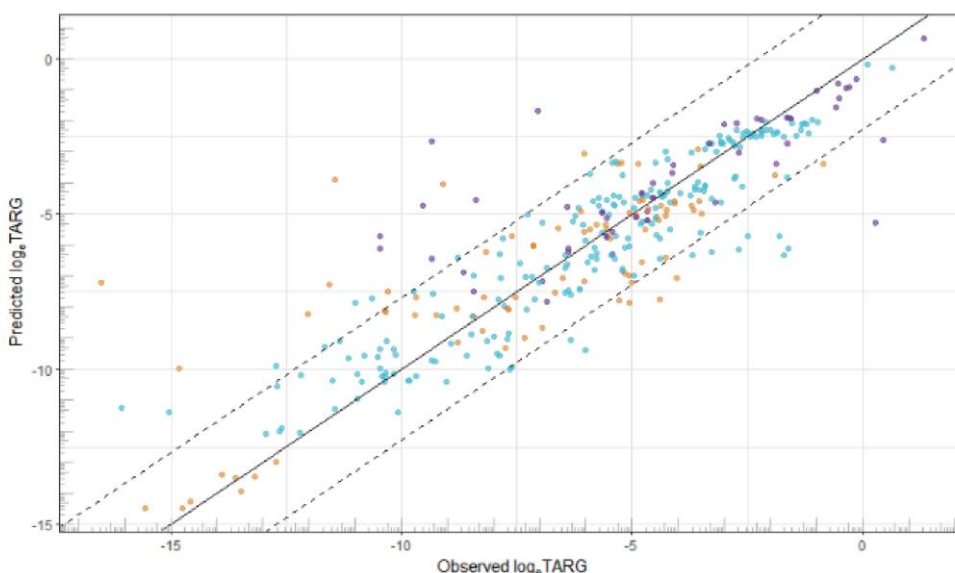
Uit dit onderzoek is gebleken dat ecologische effecten als gevolg van farmaceutische vervuiling in het stroomgebied van de Vecht niet kunnen worden uitgesloten, vooral tijdens een droog zomerseizoen (zie afbeelding 3). De veilige omgevingsgrenzen van drie van de acht geneesmiddelen (cyclofosfamide, carbamazepine en diclofenac) bleken 2 tot 4,5 keer lager te liggen dan eerder werd gedacht. Bovendien overschrijden volgens het onderzoek enkele van de meest geconsumeerde medicijnen in Nederland het aanvaardbare risico in de Vecht, namelijk carbamazepine, 17 α - ethinylestradiol en diclofenac. Tijdens een droge zomer overschrijdt het watervolume in de Vecht tot 98% van de tijd de afgeleide veilige milieugrenzen. Bij gemiddelde stromingsomstandigheden bedraagt deze waarde nog steeds minimaal 68%.

Antibioticaresistentie in het wereldwijde milieu

Antibiotica zijn de belangrijkste geneesmiddelen voor de bestrijding van bacteriële infecties en worden daarom veel gebruikt in de menselijke gezondheidszorg, maar ook in de veehouderij en de aquacultuur. Langdurige of frequente consumptie van antibiotica kan de darmmicrobiota van zoogdieren aantasten en leiden tot de ontwikkeling van antimicrobieel resistente genen (ARG's) en bacteriën (ARB's). In de huidige risicobeoordelingsgidsen ontbreken cruciale overwegingen voor antimicrobiële resistentie (AMR), gehinderd door een over het algemeen slecht begrip van de samenhang tussen mens en dier en het ecosysteem en hoe antibioticaresistentie werkt.

Gezien het diepgaande gebrek aan mechanistisch begrip van de onderliggende processen (zoals oorzaken en gevolgen) die het lot in het milieu en de ontwikkeling van antimicrobiële resistentie sturen, kan het integreren van beschikbare empirische gegevens met behulp van statistische modellen helpen bij het beantwoorden van vragen als: correleert de overvloed aan antibioticaresistentiegenen (ARG's) met de zogeheten totale selectieve antibioticadruk (TASP) op oppervlaktewater, sedimenten en afvalwater?

Om deze vraag te beantwoorden werden de beperkte gegevens over antibioticaconcentraties en ARG-abundantie die momenteel in de wetenschappelijke literatuur beschikbaar zijn, verzameld om te onderzoeken of er een relatie kon worden gedefinieerd tussen oppervlaktewater, sedimenten en afvalwater [14]. Als maatstaf voor de TASP werd de som van de concentraties, gecorrigeerd voor de remmingskracht van antimicrobiële middelen, gebruikt om de aanwezigheid van antibiotica in het milieu te correleren met de totale relatieve overvloed aan ARG (TARG). Hierbij werd gecontroleerd voor fundamentele bronnen van niet-antibiotica en onafhankelijke variabiliteit, zoals land, jaar, onderzoek, monster- en antibioticaklasse.



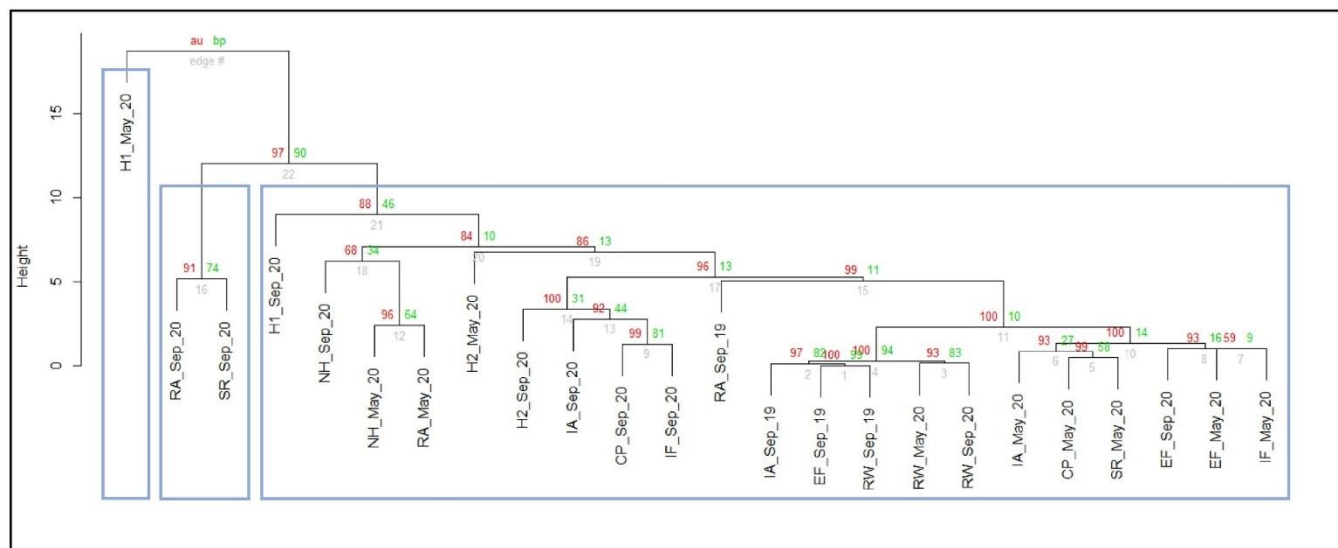
Afbeelding 4. TARG-waarden geschat op groepsniveau, dwz afhankelijk van willekeurige effecten. Doorgetrokken lijn geeft de identiteitslijn aan (aangepast $R^2 = 0,87$) en stippellijnen geven tienvoudige marges aan. Blauwe stippen geven oppervlaktewater weer; bruine stippen tonen sedimenten; paarse stippen stellen afvalwater voor

Uit dit onderzoek is gebleken dat omgevingscompartimenten (oppervlaktewater, afvalwater, sedimenten) en de selectieve anitibioticadruk kunnen worden gebruikt om de overvloed aan resistentiegenen gedeeltelijk te schatten (afbeelding 4). Een toename van het aantal antibioticaresistente microben in het milieu als gevolg van vervuilende antibiotica is aannemelijk. Wereldwijd is ontdekt dat er in sedimenten doorgaans 13 keer zoveel antibioticaresistentiegenen voorkomen dan in oppervlaktewater. In afvalwater zelfs 18 keer zoveel. Afvalwater is een potentiële bron van vervuiling door antibioticaresistentiegenen in sedimenten, wat in sommige gevallen een bron van zorg kan zijn om het milieurisico voor de ontwikkeling van antibioticaresistentie (met name in sedimenten). Er wordt wereldwijd nog weinig aandacht besteed aan het begrijpen van de milieudimensie van antibioticaresistentie met behulp van direct beschikbare informatie.

Antibioticaresistentie in een Nederlandse stad

ARG's, ARB's en antibioticaresiduen worden via urine en ontlasting uitgescheiden en komen direct (dieren) of indirect (via riolen en AWZI's) in het milieu terecht. De rol en bijdrage van verschillende stedelijke activiteiten en demografische kenmerken aan de uitstoot van antibiotica en ARG's binnen een stedelijk rioolstelsel wordt echter nog altijd slecht begrepen. Kunnen gegevens over de concentratie van antibiotica en de overvloed aan ARG's worden gebruikt om emissie-hotspots in het riool te identificeren en de prioritering van emissiereductiestrategieën te verbeteren?

Om deze vraag te beantwoorden is een gedetailleerd onderzoek uitgevoerd in Nijmegen om verschillende stedelijke bronnen van antibiotica en antibioticaresistente genen in afvalwater te karakteriseren [15]. De prevalentie van genen als ermB, tetW, sul1, sul2, int1 en 16S rRNA is bepaald op tien locaties binnen het rioolstelsel. Bemonsteringslocaties waren onder meer een verpleeghuis, een studentenwoning, een ziekenhuis en een industriegebied. Van 23 antibiotica zijn de afvalwaterconcentraties gemeten met behulp van passieve bemonstering. Bovendien werd de uitgescheiden hoeveelheid van 22 antibiotica geschat op basis van gegevens over ambulant voorschrijven en klinisch gebruik.



Afbeelding 5. Rioolprofilering. Hiërarchische clustering van locaties op basis van hun profielovereenkomst op basis van de selectieve druk van antibiotica en de relatieve overvloed aan antibioticaresistentiegenen. Blauwe vierkanten geven de meest afgelegen en onderscheidende clusters weer. Locatiecodes: H1, hoofdwinkelcentrum van het ziekenhuis; RA, woonwijk; SR, studentenwoning; NH, verpleeghuis; H2, zijuitgang ziekenhuis; IA, industriegebied; CP, verzamelput stadscentrum; IF, AWZI-influent; RW, regenwaterput; EF, RWZI-effluent

Uit dit onderzoek is gebleken dat door het combineren van informatie over TASP- en TARG-emissiehotspots in een stedelijke omgeving kunnen worden geïdentificeerd. Ziekenhuizen spelen daarbij een invloedrijke rol in de aanwezigheid en verspreiding van ARG in stedelijk afvalwater (zie afbeelding 5). Het aantreffen van antibiotica bleek in heel Nijmegen sterk geassocieerd te zijn met antibioticaresistentiegenen. Het vermoeden bestaat dat afvalwater van ziekenhuizen een belangrijke bijdrage levert aan de verrijking en verspreiding van antimicrobiële resistentie, en dus een belangrijk doelwit is voor emissiereductiestrategieën.

Vanaf 2020, het begin van de COVID19-pandemie, namen de hoeveelheden ARG sterk toe. Deze onbedoelde impact van de coronacrisis suggereert dat zelfs kortetermijnveranderingen in het therapeutische regime in ziekenhuizen kunnen resulteren in verschuivingen in de antibioticaresistentiepatronen in het afvalwater. Met interventie maatregelen gericht op specifieke antibiotica (lager verbruik, waterzuivering, waterafvoer) zou het vermogen van resistente microben in afvalwater en het rioolsysteem om zich te vermeerderen, substantieel kunnen worden verminderd. Dit idee verdient steun. De gezondheidszorg in het algemeen en ziekenhuizen in het bijzonder spelen een sleutelrol bij het bereiken van de doelstellingen van het antimicrobiële beheer.

Conclusies, uitdagingen en vooruitzichten

Over het geheel genomen kunnen uit dit onderzoek enkele belangrijke conclusies worden getrokken over het modelleren van vervuiling, het vaststellen van ecologische risicoprofielen, de levenslange en gelijktijdige blootstelling van mensen aan farmaceutische producten, en over internationale samenwerking. Ten eerste is statistische en wiskundige modellering een cruciaal, pragmatisch en levensvatbaar instrument als aanvulling op het beperkte begrip van het lot en gedrag van medicijnresten en antibioticaresistentie-genen in het milieu. Ten tweede maken blootstellings- en effectmodellen van farmaceutische stoffen in oppervlaktewateren het mogelijk om gedetailleerde, ruimtelijk expliciete ecologische risicoprofielen te creëren in grensoverschrijdende stroomgebieden onder verschillende seizoensscenario's. Ten derde kunnen menselijke kenmerken en activiteiten, en omgevingsparameters van verschillende complexiteit worden geïntegreerd in een relatief eenvoudig deterministisch blootstellingsmodel, om de levenslange gezondheidsrisico's van geneesmiddelen in het watermilieu te schatten. Ten vierde blijft het algehele inzicht in de gevolgen van gelijktijdige blootstelling aan farmaceutische producten in het milieu, inclusief aan andere verontreinigende stoffen (bijvoorbeeld metalen, biociden, industriële chemicaliën), middelmatig. Ten slotte vormt de grensoverschrijdende vervuiling met medicijnresten en antibioticaresistentiegenen een cruciale politieke en bestuurlijke uitdaging. Er is onmiddellijk consensueel gezamenlijk beheer over de nationale grenzen heen vereist.

Toekomstig onderzoek zal te maken krijgen met een aantal diepgaande uitdagingen, zoals de kwaliteit en beschikbaarheid van gegevens, de nauwkeurigheid en relevantie van risicobeoordelingen, de afhankelijkheid van toxicologische drempelwaarden van de manier waarop risicobeoordelaars de relevantie en betrouwbaarheid van gerapporteerde onderzoeken classificeren, en het gebrek aan consensus over en vertrouwen in (eco)toxiciteitsgegevens als gevolg van verschillen in openbare toegankelijkheid.

Om toekomstige risicobeoordelingen te bevorderen en de kwaliteit van het milieu te verbeteren, wordt volledige toegankelijkheid van blootstellings- en effectgegevens aangemoedigd. Wet- en regelgevers worden aangemoedigd om ontvankelijker te zijn voor op empirie gebaseerde statistische modellen; lokale autoriteiten worden aangemoedigd om gerichte emissiereductie van geneesmiddelen en antibioticaresistentie-genen toe te passen (bijv. ziekenhuizen, waterzuiveringsinstallaties). Risicobeoordelaars worden aangemoedigd om een meer proactieve benadering van risicobeoordeling voor mens en milieu te hanteren, in plaats van een reactieve benadering. Wetenschap en beleid, ten slotte, moeten snel de opname van de indirecte gevolgen van farmaceutische vervuiling opnemen in de richtlijnen voor risicobeoordeling om de toepasbaarheid ervan op opkomende bedreigingen, zoals antimicrobiële resistentie, uit te breiden.

Dankbetuigingen

Dit onderzoek werd ondersteund door het domein toegepast technisch onderzoek (TTW) van de Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO) onder het project SUSPECT (subsidieovereenkomst nr. 15763) en het Europees Fonds voor Regionale Ontwikkeling van de Europese Unie onder het project MEDUWA Vecht(e) (142118). Het MEDUWA-project (Medicines Unwanted in

Water) [16] pakte de vermindering en preventie van farmaceutische emissies en multiresistente bacteriën in verschillende milieus aan.

Referenties

1. European Medicines Agency (2022). *Medicine evaluation figures*.
2. Deblonde, T., Cossu-Leguille, C., Hartemann, P. (2011). 'Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature'. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2011; 214: 442-448. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.08.002>
3. Tran, N.H., Reinhard, M., Gin, KY-H. (2018). 'Occurrence and fate of emerging contaminants in municipal wastewater treatment plants from different geographical regions-a review'. *Water Research* 2018; 133: 182-207. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.029>
4. Aus der Beek, T. et al. (2016). 'Pharmaceuticals in the environment--Global occurrences and perspectives.' *Environmental toxicology and chemistry*, 35(4), 823–835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>
5. Kümmerer, K. (2010). 'Pharmaceuticals in the Environment'. *Annual Review of Environment and Resources* 2010; 35: 57-75. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-052809-161223>
6. Wilkinson J.L. et al. (2022). 'Pharmaceutical pollution of the world's rivers'. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2022; 119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2113947119>
7. Vewin (2021). Drinkwaterfactsheet 2020. Den Haag.
8. <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2020-0088.pdf>
9. OECD (2023), *Health at a Glance 2023: OECD Indicators*, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/7a7afb35-en>
10. Jobling, S. et al. (2006). 'Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish Populations'. *Environmental Health Perspectives* 2006; 114: 32-39. <https://doi.org/10.1289/ehp.8050>
11. Richmond, E. K. et al. (2019). 'Influences of the antidepressant fluoxetine on stream ecosystem function and aquatic insect emergence at environmentally realistic concentrations'. *Journal of Freshwater Ecology*, 34(1), 513–531. <https://doi.org/10.1080/02705060.2019.1629546>
12. Oaks, J.L., et al. (2004). 'Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan'. *Nature* 2004; 427: 630-633. <https://doi.org/10.1038/nature02317>
13. Duarte, D.J. (2023). 'Pharmaceuticals, toxicity and antimicrobial resistance'. *Advancing human health and environmental risk assessment*. <https://doi.org/10.54195/9789493296145>
14. Duarte, D.J., Oldenkamp, R., & Ragas, A.M.J. (2022). 'Human health risk assessment of pharmaceuticals in the European Vecht River'. *Integrated environmental assessment and management*, 18(6), 1639–1654. <https://doi.org/10.1002/ieam.4588>
15. Duarte, D. J. et al. (2022). 'Ecological Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Transboundary Vecht River (Germany and The Netherlands)'. *Environmental toxicology and chemistry*, 41(3), 648–662. <https://doi.org/10.1002/etc.5062>
16. Duarte, D.J., R. Oldenkamp, and A.M.J. Ragas (2019). 'Modelling environmental antibiotic-resistance gene abundance: A meta-analysis'. *Sci. Total Environ.*, 2019. 659: p. 335-341. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.233>

17. Duarte, D. J. et al. (2023). 'Characterization of urban sources of antibiotics and antibiotic-resistance genes in a Dutch sewer catchment'. *The Science of the total environment*, 905, 167439.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167439>

18. *Medicines Unwanted in Water (MEDUWA)*. <https://www.meduwa.uni-osnabrueck.de/en>