

## Sleutelfactor Toxiciteit



### Calibratie van de risicogrenzen voor interpretatie van bioassays

**Auteurs:**

Milo de Baat (KWR Water Research Institute)

Tessa Pronk (KWR Water Research Institute)

Sanne van den Berg (WenR)

Versie: November 2021



## 1 Inleiding

Om een beeld te krijgen van waterkwaliteit met betrekking tot de aanwezigheid van chemische stoffen kunnen effectmetingen met bioassays worden gedaan. Gemeten effecten representeren het totale effect van de mix van chemicaliën in het water op het eindpunt dat de bioassay meet.

Om te weten of een bepaald effect aanleiding geeft tot nader onderzoek, omdat risico niet is uitgesloten, moeten de waardes van de gemeten effecten geïnterpreteerd kunnen worden. Deze interpretatie geeft aan hoe groot het bijbehorende risico is voor waterorganismen of humane gezondheid. Deze notitie beschrijft hoe de grenzen voor interpretatie van bioassays zijn vastgesteld. De interpretatie is zo dat de waterkwaliteit in verschillende waterkwaliteitsklassen wordt opgedeeld, elk met een eigen kleurcode.

### 1.1 Vaststellen ESW en kleurencode

Voor de koppeling tussen bioassays en (eco)toxicologie is gebruikt gemaakt van gegevens over de minimale dosis die effect veroorzaakt bij soorten die leven in water. Een bioassay pikt verschillende stoffen op, zolang deze het mechanisme van de bioassay beïnvloeden. Een overzicht van de stoffen die worden opgepikt, en bij welke concentratie is voor veel bioassays beschikbaar. Zo'n overzicht kan gebruikt worden om grenzen (waarden) te vinden waar de bioassay aangeeft dat het de verwachting is dat er effecten op soorten zullen plaatsvinden. Deze grenzen heten effect-sigitaalwaardes (ESW). ESW differentiëren tussen toereikende en ontoereikende waterkwaliteit op basis van de respons van bioassays op watermonsters. Het afleiden van ESW is een onderwerp dat de afgelopen jaren in toenemende mate aandacht heeft gekregen in de wetenschappelijke literatuur. Als gevolg zijn er verscheidene manieren ontwikkeld om deze ESW af te leiden, en zijn er voor veel bioassays meerdere ESW beschikbaar. Om te komen tot bruikbare ESW voor de gebruikers van de SFT2 is daarom besloten een voorlopige selectie te maken van geschikte methoden voor afleiding en de daarbij horende ESW. Om de diagnostische waarde van de ESW te vergroten is er besloten de ESW uit te drukken in vijf kwaliteitsklassen per bioassay, met bijbehorende kleuren van goed naar slecht, waarin de ESW de grens tussen blauw-groen (geen actie nodig) en geel-oranje-rood (actie nodig) aangeeft. Op deze manier is de bioassay aanpak in lijn gebracht met het chemiespoor, waar de kwaliteitsklassen op basis van stofconcentraties op dezelfde manier zijn ingedeeld.

De effecten die horen bij een bepaalde bioassay waarde zijn niet perse gelijk voor milieu en mens. Daarom zijn er twee sets ESW vastgesteld met verdere onderverdeling in kleurklassen: een voor de interpretatie van risico voor milieu en een voor mens.

#### 1.1.1 Effect-sigitaalwaardes voor milieu

Waar data beschikbaar was, is voor de afleiding van de ESW voor milieukwaliteit uitgegaan van de data achter de SIMONI aanpak van Van der Oost *et al.* (2017), zoals deze ook werd beschreven in de ecologische sleutel factor toxiciteit 1 (ESFT1). In de SIMONI aanpak zijn zogenaamde "Species Sensitivity Distributions" (SSD) opgesteld voor bioassays. De SSD's zijn vanwege lage databeschikbaarheid opgebouwd uit een mix van bijvoorbeeld laagste effect concentraties (LOEC), concentraties met 50% effect (EC50). Op basis van deze SSDs en



achtergrond waardes op locaties met een goede ecologische status werden in van der Oost *et al.*, (2017) met behulp van expert opinie ESW afgeleid. Om dichter bij de ecotoxicologische oorsprong van de data te blijven, en om te werken in lijn met de msPAF benadering uit het chemiespoor van de SFT2 is er hier voor gekozen de grenzen voor de verschillende kwaliteitsklassen direct af te leiden uit de SSDs voor de bioassays. Er worden dus geen correcties hierop toegepast. In analogie met de msPAF noemen we dit 'effect methode Potentieel Aangetaste Fractie' (emPAF). Deze ESW is gezet op een waarde van de bioassay waarbij 5% van de soorten potentieel aangetast wordt (emPAF 5%). Dit komt overeen met van der Oost *et al.* (2017) en de msPAF uit het chemiespoor. Het is onbekend wat het potentieel aangetaste fractie soorten betekent voor de ecologische staat. Deze link is in de SFT2 niet gelegd. In de praktijk zien we aan de hand van de respons waarden van een aantal bioassays dat de wateren die de hoogste respons geven, overeen komen met een SSD waarde van rond de 20 % potentieel aangetaste soorten. Daarom is deze waarde als bovengrenswaarde genomen. De gebruikte grenzen tussen de kwaliteitsklassen, uitgedrukt in emPAF, zijn weergegeven in Tabel 1.

Voor bioassays waar geen SSD beschikbaar is, is besloten de grenzen van de vijf kwaliteitsklassen te bepalen aan de hand van een simpele rekenkundige verdeling. Deze verdeling is gebaseerd op een richtlijn voor vervolgstappen na ESW overschrijding door Leusch & Snyder (2015). Deze richtlijn wordt ook genoemd in het Global Water Research Coalition (GWRC) rapport (2020). De gebruikte grenzen, op basis van Leusch & Snyder (2015), zijn ook weergegeven in Tabel 1.

*Tabel 1. Grenzen op basis van emPAF en aantal keer ESW voor waterkwaliteitsklassen gebruikt om effect-signaalwaardes voor klassen te definiëren.*

Klasse	emPAF	Leusch & Snyder 2015
	0.00 - 0.025	<0.1x ESW
	0.025 - 0.05	0.1x ESW – ESW
	0.05 - 0.10	≥ESW – 10x ESW
	0.10 - 0.20	10x ESW – 100x ESW
	0.20 - 1.00	>100x ESW

Voor de *in vivo* bioassays (de bioassays die effecten op hele cellen of organismen meten) werden in de SIMONI strategie generieke ESW afgeleid op basis van een acuut-chronische toxiciteitsratio van 10 om te corrigeren voor de korte blootstellingsduur van de bioassays, en een veiligheidsfactor van 2 om te corrigeren voor de beperkte recovery van extractiemethodes. Hiermee werd een relatieve verrijgingsfactor (REF; relative enrichment factor) van 20 t.o.v. het water als ESW afgeleid. Dit betekent dat een voldoende kwaliteit wordt aangenomen als een 20x of hoger geconcentreerd watermonster geen effect in de bioassay veroorzaakt. Deze waarde is in de praktijk echter te laag ten opzichte van de REF die gemeten worden. Daardoor is deze grens niet onderscheidend, gemeten waarden liggen hier vrijwel altijd onder. Om die reden is besloten om voor de drie *in vivo* bioassays én de cytotoxiciteit assay waarvoor geen SSDs beschikbaar was de responsbreedte van deze bioassays in de praktijk te gebruiken om de grenzen voor de vijf waterkwaliteitsklassen af te leiden. De responsen worden uitgedrukt in concentratiefactor die leidt tot 50% effect op het



organisme/ assay (relative enrichment factor, REF). Omdat de maat REF van hoog (toxiciteit bij veel concentreren) naar laag (toxiciteit bij weinig concentreren) gaat bij toenemende toxiciteit bemoeilijkt dit de interpretatie ten opzichte van de andere bioassays, die van laag naar hoog (in concentratie bioanalytische equivalenten van een referentiestof) gaan. Daarom drukken we de REF weer uit in ‘Toxic Units (TU)’, deze worden uitgerekend als 1/REF.

Het betreft hier de Microtox, Daphnia IQ, Algen PAM, en de CALUX cytotoxiciteit bepaling.

Een afleiding van een ESW op basis van een SSD was mogelijk voor de ER $\alpha$ , anti-AR, Nrf2, PAH, PPAR $\gamma$  en PXR CALUX assays. Voor de enige *in vitro* bioassay voor milieukwaliteit van de KIWK waarvoor geen SSDs beschikbaar was, de *anti-PR* CALUX assay, is de ESW uit de literatuur gekozen. Hiervoor is de waarde van 13 ng REQ/L uit De Baat *et al.* (2020) genomen. Deze waarde is gebaseerd op de voorlopige ESW uit Escher *et al.* (2018), en geijkt aan bioassay responses op watermonsters van een verscheidenheid aan locaties in Nederland. Vervolgens is de systematiek van Leusch & Snyder toegepast om tot de grenzen van de vijf kwaliteitsklassen te komen.

Dit heeft geleid tot de indeling van de responsen voor bioassays voor milieukwaliteit in vijf kwaliteitsklassen per bioassay. Deze klassen kunnen gebruikt worden voor de effect-gebaseerde diagnostische toetsing van de oppervlaktewaterkwaliteit.

Tabel 2. Waterkwaliteitsklassen (uitgedrukt in % emPAF) voor milieu en bijbehorende grenzen (uitgedrukt als bioanalytische equivalenten van de referentiestof per bioassay) voor zes bioassays voor waterkwaliteitsbepaling gebaseerd op SIMONI SSDs.

Klasse Grenzen (% em PAF)	<2,5	<5	<10	< 20	>20
ER $\alpha$ (ng EEQ/L)	0-0,13	0,13 – 0,52	0,52 – 3,2	3,2-32	>32
PAH (ng BEQ/L)	0-20	20 - 41	41 - 160	160-565	>565
Nrf2 ( $\mu$ g CEQ/L)	0-0,01	0,01 – 0,034	0,034 – 0,15	0,15-1	>1
PXR ( $\mu$ g NEQ/L)	0-0,0032	0,0032 – 0,008	0,008 – 0,032	0,032-0,1	>0,1
PPAR $\gamma$ (ng ROSEQ/L)	0-0,1	0,1-0,3	0,3-2,5	2,5-20	>20
anti-AR ( $\mu$ g FEQ/L)	0-0,04	0,04 – 0,13	0,13 – 0,56	0,56-1,6	>1,6

Klasse Grenzen (BEQ)	BEQ < 0.1x ESW	0.1x ESW < BEQ < ESW	ESW < BEQ < 10x ESW	10x ESW < BEQ < 100x ESW	BEQ > 100x ESW
Anti-PR (ng REQ/L)	<1.3	1.3-13	13-130	130-1300	>1300



Tabel 3. Waterkwaliteitsklassen voor milieu en bijbehorende grenzen voor bioassays uitgedrukt in toxic units (TU) voor waterkwaliteitsbepaling, gebaseerd op de respons breedte van bioassay meetwaarden in oppervlaktewater. De grenzen zijn telkens een verdubbeling van de TU waarde.

Klasse Grenzen (TU)	Zeer weinig effect	Weinig effect	Effect	Hoog effect	Zeer hoog effect
Microtox (TU)	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,02	0,02-0,04	>0,04
Daphnia (TU)	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,02	0,02-0,04	>0,04
Alg (TU)	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,02	0,02-0,04	>0,04
Cytotox (TU)	0-0,001	0,001-0,002	0,002-0,004	0,004-0,008	>0,008

De klassen die met behulp van SSD zijn afgeleid (Tabel 2) kunnen worden geïnterpreteerd als het percentage soorten dat potentieel wordt aangetast bij de bioassay waarde. Op de SSD curve kan ook worden afgelezen wat het percentage soorten is met potentieel acute toxiciteit. In de toxicologie wordt hiervoor een factor 10 gebruikt. Dus, het percentage op de SSD curve dat hoort bij een waarde van de bioassay /10 is het percentage dat potentieel acuut wordt beïnvloed.

De klassen die met behulp van ESW zijn afgeleid (*anti-PR calux*) kunnen worden geïnterpreteerd als afstand tot toereikende en ontoereikende waterkwaliteit op basis van de respons van bioassays op watermonsters. Als we dezelfde toxicologische factor toepassen om van chronisch naar acuut te gaan, is klasse ‘Oranje’ (>10xESW) het punt waar de omslag is van kans op toereikende tot ontoereikende waterkwaliteit acuut is. Er is in dat geval weinig tijd te verliezen.

De klassen die met behulp van responsbreedtes uit de praktijk zijn afgeleid (Tabel 3) kunnen geïnterpreteerd worden als de concentratiefactor waarbij de helft van het effect plaatsvindt in de bioassay.

### 1.1.2 Effect signaalwaardes voor humaan

Voor de bepaling van humane ESWs kan geen gebruik gemaakt worden van een SSD, omdat deze voor humane toxicologie niet zijn ontwikkeld. Daarom is een selectie gemaakt van de beschikbare ESWs uit de wetenschappelijke literatuur. Waar mogelijk is gebruik gemaakt van de recente ESWs afgeleid door Béen *et al.* (2021). Deze waardes zijn afgeleid op basis van voorlopige drinkwater richtwaarden voor stoffen die actief zijn in de verschillende bioassays.

Voor twee bioassays om humaan relevante waterkwaliteit te meten konden betrouwbare ESWs worden afgeleid (ER-en anti-AR CALUX). Voor een andere assay kon een voorlopige ESW worden afgeleid (PAH-CALUX), waarbij vermeld werd dat de grenzen met voorzorg ingezet moeten worden door de beperkte hoeveelheid data waarop ze gebaseerd zijn. Desalniettemin is besloten deze waardes in de KIWK toe te passen en deze na een tijd te evalueren op hun relevantie. Voor de PAH CALUX is geen andere humane ESW



beschikbaar, en de humane ESW wel valt in ieder geval in dezelfde range als gerapporteerde ESWs voor bescherming van het milieu.

Voor de p53- en Nrf2-CALUX assays was niet genoeg data beschikbaar om betrouwbare ESWs af te leiden. Omdat genotoxiciteit in elke mate kan leiden tot een kans op genetische mutaties en/of kanker, is besloten dat zolang er geen betrouwbare en goed onderbouwde ESW voor de p53-CALUX beschikbaar is, uit te gaan van de noodzaak tot actie zodra er activiteit in de bioassay wordt gedetecteerd. Toch is het praktisch om een schaal met kwaliteitsklassen te hebben om wateren met elkaar te kunnen vergelijken. De hoogste klasse voor de p53 bioassay zit bij water dat bij 2000 keer concentreren een merkbaar effect geeft. Voor de Nrf2 CALUX kan op termijn gebruik worden gemaakt van de vervangende AREc32 assay. De twee assays zijn inwisselbaar omdat ze hetzelfde eindpunt (oxidatieve stress) representeren, en voor de AREc32 assay is wel een humane ESW beschikbaar (ook voor milieu). Er is in Nederland alleen geen ervaring met deze assay, wel is er een onderzoek naar toepasbaarheid gedaan bij KWR water.

Voor de *anti-PR-CALUX* is geen humane ESW in de wetenschappelijke literatuur gerapporteerd. In de toekomst kan op basis van effectconcentraties van actieve stoffen in de bioassay met een drinkwaterrichtwaarde een ESW worden afgeleid volgens de methodiek uit Béen *et al.* De data die gegenereerd worden tijdens effectmetingen volgens de SFT2 zullen een ijkings- en onderbouwingswaarde af te leiden ESW met realistische metingen mogelijk maken. Dit geldt ook voor de PPAR $\gamma$ -CALUX.

Om de grenzen voor de vijf kwaliteitsklassen te definiëren voor bioassays voor drinkwaterkwaliteit is de systematiek uit Leusch & Snyder (2015) toegepast (Tabel 4). De hier aangegeven klassen kunnen gebruikt worden voor de effect-gebaseerde diagnostische toetsing van de drinkwaterkwaliteit. Zij zijn te interpreteren als afstand tot de effect signaal waarden die in de literatuur zijn afgeleid. Deze effect signaal waarden geven een waarde aan waarboven risico niet is uitgesloten. De grenzen die geïnspireerd zijn op Leusch & Snyder (2015) gaan met grotere stappen dan de grenzen voor ecologie, die waarden hanteren die ongeveer verdubbelen met elke klasse. Hierdoor zal de waterkwaliteitsklasse voor humaan vaak niet oranje of rood bereiken, omdat deze waarden in de praktijk niet gemeten worden. Het is uiteraard een optie om deze waarden aan te passen. Maar, in tegenstelling tot de ecologische waarden die nog gevalideerd zouden kunnen worden omdat ze verbonden zijn met een fractie potentieel aangetaste soorten, zijn de humane waarden niet te interpreteren op zulk risico. Het is wel duidelijk dat 'rood' erger is dan 'groen' maar hoeveel erger, is onbekend. Daarom laten we de grenzen zoals ze gebaseerd zijn op Leusch & Snyder (2015) tot er een beter onderbouwd alternatief is, zoals een SSD equivalent voor humane interpretatie.

*Tabel 4. Waterkwaliteitsklassen voor drinkwaterkwaliteit en bijbehorende grenzen (bioanalytische equivalenten van de referentiestof per bioassay) voor negen bioassays voor waterkwaliteitsbepaling gebaseerd op ESWs uit de wetenschappelijke literatuur.*

Klasse (BEQ)	Grenzen	BEQ < 0,1x ESW	0,1x ESW < BEQ < ESW	ESW < BEQ < 10x ESW	10x ESW < BEQ < 100x ESW	BEQ > 100x ESW
--------------	---------	----------------	----------------------	---------------------	--------------------------	----------------





ER $\alpha$ (ng EEQ/L)	<0,025	0,025 - 0,25	0,25 - 2,5	2,5 - 25	>25
anti-AR (μg FEQ/L)	<0,48	0,48 - 4,8	4,8 - 48	48 - 480	>480
PAH (ng BEQ/L)	<2,44	2,44 - 24,4	24,4 - 244	244 - 2440	>2440
Nrf2 (μg CEQ/L)	Geen ESW beschikbaar, Meer data nodig voor afleiding				
PPAR $\gamma$ (ng ROSEQ/L)	Geen ESW beschikbaar, Meer data nodig voor afleiding				
PXR CALUX	Geen ESW beschikbaar, Meer data nodig voor afleiding				
anti-PR (ng REQ/L)	Geen ESW beschikbaar, Meer data nodig voor afleiding				

Tabel 5. Waterkwaliteitsklassen voor milieu en bijbehorende grenzen voor bioassays uitgedrukt in toxic units (TU) voor waterkwaliteitsbepaling, gebaseerd op de respons breedte van bioassay meetwaarden in oppervlaktewater. De grenzen zijn telkens een verdubbeling van de TU waarde.

Klasse Grenzen (TU)	Ze er we inig effect	Weinig effect	Effect	Hoog effect	Ze er hoog effect
Microtox (TU)**	0-0,005	0,005-0,01	0,01-0,02	0,02-0,04	>0,04
Cytotox (TU)	0-0,001	0,001-0,002	0,002-0,004	0,004-0,008	>0,008
P53 (GTU)*	0-0,000025	0,000025-0,00005	0,00005-0,0001	0,0001-0,0002	>0,0002

\* alleen voor drinkwater om desinfectie-bijproducten te signaleren

\*\* alleen voor oppervlaktewater voor drinkwaterproductie

Niet voor alle bioassays om humaan relevante waterkwaliteit te meten zijn ESW beschikbaar. Dat betekent dat de bioassay responsen voor deze bioassays niet geïnterpreteerd kunnen worden in termen van risico. Tot het moment dat er voor deze bioassays wel een ESW afgeleid wordt kan er wel trend-monitoring gedaan worden. Bijvoorbeeld, wordt de bioassay respons hoger of lager met de tijd? Ook kunnen locaties met elkaar vergeleken worden met betrekking tot de bioassay respons. Bijvoorbeeld verschillende drinkwaterbronnen. Of, de respons vanaf een emissiebron tot aan de drinkwaterbron. Een andere toepassing is de effectiviteit van waterzuiveringsinstallaties te beoordelen door bioassay responsen tussen voor en na zuivering te vergelijken. Zodra een ESW beschikbaar is kunnen deze metingen vervolgens retrospectief geïnterpreteerd worden op risico.

## 1.2 Samenvatting grenzen bioassays

In Tabel 5 staat een overzicht van de bioassays die gekozen zijn. In de tabel zijn de waarden van de bioassay weergegeven die bij de overgang van kleur 'groen' naar kleur 'geel' gaat. Over



het algemeen zijn de waarden zo gekozen dat er bij blauw en groen geen actie ondernomen hoeft te worden, en bij geel aanvullend onderzoek zou kunnen gaan plaatsvinden. Bij oranje en zeker rood zal geldt dat natuurlijk nog sterker.

Tabel 5. Overzicht en vergelijking van grenswaarden tussen 'groen' en 'geel' voor bioassays voor milieu en humaan.

	Milieu (M) / Bron Drinkwater (BD) / Drinkwater (D)	ESFT1 (SIMONI)	Milieu	Humaan
<b>ERa CALUX (ng EEQ/L)</b>	M/BD/D	0,5	0,5	0,25
<b>anti-AR CALUX (µg FEQ/L)</b>	M/BD/D	25	0,13	4,8
<b>Nrf2 CALUX (µg CEQ/L)</b>	M/BD/D	10	0,034	-
<b>PAH CALUX (ng BEQ/L)</b>	M/BD/D	150	41,0	24,4 (*)
<b>PXR CALUX (µg NEQ/L)</b>	M/BD/D	3	0,008	-
<b>Microtox (TU)</b>	M/BD	0,005	0,005	0,005
<b>Daphnia (TU)</b>	M	0,005	0,005	-
<b>Alg (TU)</b>	M	0,005	0,005	-
<b>Cytotox CALUX (REF)</b>	M/BD/D	0,005	0,002	0,002
<b>Anti-PR CALUX (ng REQ/L)</b>	M/BD/D		13	-
<b>P53 CALUX (genotoxic units GTU)</b>	D	0,005	-	0,00005
<b>PPARG CALUX (ng RosEQ/L)</b>	M/BD/D	10	10	-

\* onzeker vanwege weinig data (Been et al., 2021)

### 1.3 Conclusie

Met behulp van SSD curves per bioassay zijn klassen van waterkwaliteit met betrekking tot de (eco)toxiciteit aangegeven per bioassay waarde. Voor humane klassen van waterkwaliteit kan geen gebruik gemaakt worden van SSD, daarom zijn kleuren voor deze bioassays allen met behulp van ESW waarden afgeleid. De interpretatie van beide manieren van afleiden is wel verschillend. In het ene geval staat de klasse voor percentage potentieel aangetaste soorten. In het andere geval staat de klasse voor een afstand tot een grens van acceptabele waterkwaliteit naar waterkwaliteit met potentieel risico op nadelige effecten, wat een minder strak gedefinieerde maat is die ook lastiger geverifieerd zal kunnen worden. Voor *in vivo* bioassays staat het voor een concentratie die nodig is om de helft van het toxische effect in de bioassay te veroorzaken.

Bioassays verschillen in de soort stoffen waar ze op reageren. Elke bioassay afzonderlijk geeft dus inzicht in een bepaald probleem met een type chemische stoffen, dat mogelijk een eindpunt induceert (acuut of chronisch) bij organismen. Het is dus van belang om de resultaten van de verschillende bioassays inzichtelijk te houden. Dit kan het beste op het niveau van stofgroepen die samen een repons te weeg brengen in een specifieke bioassay. In andere woorden, de bioassays moeten individueel beoordeeld worden. Voor een ander doel, samenvattend karteren





van toxiciteit van alle stoffen samen, kunnen de responsen van alle bioassays worden geaggregeerd. Het omrekenen van de bioassay resultaten naar kleuren geeft namelijk wel ruimte om de bioassay resultaten te combineren. Drie keer rood in de bioassays is erger dan één keer rood.

In de toekomst moeten de grenswaarden van de bioassays nader vastgelegd worden. Voor milieu gaat dit bij voorkeur met het opstellen van nog op te stellen SSD curves voor de bioassays waar deze nu niet voorhanden zijn. De bestaande SSD's kunnen ook verbeterd worden door meer eenduidige gegevens (hetzelfde eindpunt bijvoorbeeld de EC50 waarde van een effect op een soort) te gebruiken voor een SSD curve, zodra genoeg van zulke gegevens beschikbaar komen.

**Disclaimer:** De hier weergegeven grenzen zijn afgeleid met op dit moment beschikbare data en inzichten. De voorgestelde kwaliteitsklassen zullen in de praktijk toegepast en geïkt moeten worden, en zo nodig op basis van de praktijkervaring bijgesteld moeten worden. Dit kan met terugwerkende kracht de interpretatie van de bioassay resultaten veranderen maar uiteraard niet de bioassay respons zelf.

## Referenties

- de Baat, ML, Van der Oost, R. Van der Lee, G.H. Wieringa, N. Hamers, T. Verdonchot, P.F.M. De Voogt, P. Kraak M.H.S. (2020) Advancements in effect-based surface water quality assessment *Water Res.*, 183, Article 116017
- Been, F., Pronk, T., Louisse, J., Houtman, C., van der Velden-Slootweg, T., van der Oost, R., Dingemans, M.M., 2021. Development of a framework to derive effect-based trigger values to interpret CALUX data for drinking water quality. *Water Res.* 193, 116859.
- Escher, B.I., Aït-Aïssa, S., Behnisch, P.A., Brack, W., Brion, F., Brouwer, A., Buchinger, S., Crawford, S.E., Du Pasquier, D., Hamers, T., 2018. Effect-based trigger values for in vitro and in vivo bioassays performed on surface water extracts supporting the environmental quality standards (EQS) of the European Water Framework Directive. *Sci. Total Environ.* 628, 748–765.
- Leusch FDL and Snyder SA (2015) Bioanalytical tools: half a century of application for potable reuse. *Environmental Science: Water Research and Technology* 1: 606-621.
- van der Oost, R., Sileno, G., Suárez-Muñoz, M., Nguyen, M.T., Besselink, H. and Brouwer, A. (2017), SIMONI (Smart Integrated Monitoring) as a novel bioanalytical strategy for water quality assessment: Part I—model design and effect-based trigger values. *Environ Toxicol Chem*, 36: 2385-2399. <https://doi.org/10.1002/etc.3836>
- GWRC Factsheet (2000) Effect based monitoring (EBM) for the assessment of risks for low-level mixtures of chemicals in water on man and the environment. Peta Neale, Fred Leusch, Beate Escher



---

[http://www.globalwaterresearchcoalition.net/\\_r4284/media/system/attrib/file/825/GWRC\\_EBM%20in%20WST\\_Factsheet%203\\_1%206%20April%202020.pdf](http://www.globalwaterresearchcoalition.net/_r4284/media/system/attrib/file/825/GWRC_EBM%20in%20WST_Factsheet%203_1%206%20April%202020.pdf)

