

BIJLAGE 2: EXPERTENBEVRAGING



1. Externe experts

Het document met de studieopzet werd ook voorgelegd aan externe experts. Er werden vier experts uit Vlaanderen en Nederland bereid gevonden om feedback te geven op de studieopzet. Concreet werd hen gevraagd of ze vanuit de eigen expertise knelpunten zagen in de studieopzet.

Op 24 maart 2022 werd het document aan de experts bezorgd en de antwoorden werden ingewacht tegen uiterlijk 31 maart 2022. Sommige aangeschreven experts stemden de feedback intern af met meerdere collega's. Deze worden verder in deze tekst beschouwd als één expert.

De experts die reageerden op onze oproep zijn:

- Christian Horemans van de Landsbond van Onafhankelijke Ziekenfondsen
- Wieneke Bil/Rik Bogers van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM) Nederland
- Professor Jacob de Boer van de Vrije Universiteit Amsterdam, Nederland
- Fred Woudenberg van de Geneeskundige en Gezondheidsdienst (GGD) Amsterdam, Nederland

2. Algemene bevindingen

Drie van de vier externe experts vinden de studieopzet gedegen, grondig en doordacht.

Eén van de experts vindt het positief dat de studieopzet werd voorgelegd aan de stuurgroep en aan de lokale adviesgroep en dat hun reacties werden opgenomen in het onderzoeksvoorstel. Dit zal volgens de expert bijdragen aan het vertrouwen in de resultaten van de studie.

3. Naam en situering

Eén van de experts suggereert om 'PFAS' te verwerken in de naam van de studie.

- We kregen een gelijkaardige opmerking op het tweede overleg met de lokale adviesgroep (28/03/2022). De naam van de studie werd vastgelegd in het ethisch dossier dat op 16 maart werd ingediend bij de ethische commissie van de Universiteit Antwerpen en kan bijgevolg niet meer gewijzigd worden. We proberen met de opmerking van de expert en van de lokale adviesgroep rekening te houden door 'PFAS' te vermelden op extern communicatiemateriaal, bijkomend bij de naam van de studie zoals vermeld in het ethisch dossier.

4. Onderzoeksvragen

4.1. Vergelijking met andere studies

Twee van de vier experts halen aan dat de tijdsperiode van 5 jaar tussen de Vlaamse referentiegroep en de huidige studie methodologisch niet zo sterk is. Zij suggereren dat een vergelijking met een controlegroep uit een niet-vervuilde zone die in dezelfde periode onderzocht wordt een sterker alternatief zou zijn.

- De optie om te werken met een studiepopulatie in het aandachtsgebied en een controlegroep uit een niet-vervuild gebied werd ook in overweging genomen bij het opstellen van het subsidievoorstel. Er waren echter verschillende knelpunten voor deze optie. Gezien de inventarisatie van potentieel met PFAS-vervuilde gebieden nog volop aan de gang is, was het bij het indienen van het subsidievoorstel niet duidelijk of en waar er in Vlaanderen een voldoende grote zone zonder PFAS-bronnen kon worden afgebakend als controlegebied. Daarnaast lieten ook het beschikbare budget en de voorziene looptijd van de studie niet toe om gelijktijdig twee voldoende grote studiepopulaties te rekruteren en te onderzoeken. Daarom werd gekozen voor een cross-sectionele studie in het aandachtsgebied, waarbij de nabijheid van het bedrijf wel als variabele zal onderzocht worden.

4.2. Vergelijking met de gezondheidskundige toetsingswaarden

Eén van de experts haalt aan dat de gezondheidskundige toetsingswaarden waarmee zal vergeleken worden vooraf moeten worden geëxpliciteerd.

- De gezondheidskundige toetsingswaarden waarmee zal vergeleken worden, zullen worden opgenomen in het statistisch analyseplan. Daar wordt momenteel nog aan gewerkt.

4.3. Associaties tussen PFAS-gehalten in serum en de waargenomen gezondheidsmerkers

Eén van de experts vraagt of er gekeken wordt naar causale verbanden en mechanismen.

- Eén van de onderzoeksvragen is het nagaan van associaties tussen PFAS in serum en de gemeten gezondheidsmerkers. De gezondheidsmerkers zijn weergegeven in hoofdstuk 11 'Effectmerkers'. Deze zijn geselecteerd op basis van beschreven en geëvalueerde associaties met PFAS-blootstelling in de wetenschappelijke literatuur. De methodologisch aanpak van deze onderzoeksvraag zal uitgeschreven worden in het statistisch analyseplan. Met humane biomonitoring kunnen echter geen causale verbanden worden aangetoond. Er kan wel worden aangetoond dat er een verband is tussen een verandering in blootstelling en een verandering in een effectmerker. Hierbij zal zo veel mogelijk rekening worden gehouden met andere invloedfactoren die op de effectmerker inwerken, waardoor de evidentie van een werkelijke relatie tussen de blootstelling en het effect vergroot. De betekenis van de waargenomen associaties tussen blootstelling en gezondheidseffecten kan nog verder ondersteund worden door causale verbanden die gerapporteerd werden in proefdierstudies. Causale verbanden worden aangetoond door gekende dosissen van een bepaalde chemische stof toe te dienen aan proefdieren of proefpersonen en dan te observeren hoe het onderzochte gezondheidseffect evolueert na deze toediening.

4.4. Belang van de verschillende blootstellingsroutes

Eén van de experts vraagt of er gekeken wordt naar de proximateit van bronnen.

- Eén van de onderzoeksvragen is inderdaad om na te gaan of de PFAS-gehalten in serum geassocieerd zijn met de geografische ligging van de woning tot mogelijke PFAS-bronnen. Hiervoor zal de afstand en de oriëntatie van de adreslocatie tot de mogelijke PFAS-bronnen berekend worden. Deze gegevens zullen dan in het statistisch analyseplan verder worden verwerkt.

Eén van de experts haalt aan om in de blootstellingsberekeningen ook blootstelling via drinkwater en via (historische) luchtmissies in rekening te brengen.

- Er zijn geen gegevens van historische luchtmissies beschikbaar, deze kunnen bijgevolg niet gemodelleerd worden.
- Wat betreft drinkwater, in de studie wordt niet bevraagd welk water de deelnemers drinken waardoor aannames moeten gemaakt worden indien we dit in rekening willen brengen. Bovendien is het drinkwater veilig, ligt het onder de Europese richtlijnen (100 ng/l voor PFAS-20) en ook onder de advieswaarde voor de EFSA-4 (website water-link <https://water-link.be/nieuws/drinkwater-van-water-link-veilig-pfas-waarden-ver-onder-europese-richtlijnen>), door de VMM toegepast als 4 ng/l voor de som van PFOS, PFOA, PFnA en PFHxS (VMM: rapport Perfluorverbindingen in drinkwater, 2021).

4.5. Onderzoeksvragen over perceptie

Eén van de experts vraagt of het wel een wetenschappelijke meerwaarde heeft om te polsen naar het vertrouwen in instanties in een gebied waarover de PFOS-commissie zegt dat de overheid steken heeft laten vallen. Er wordt benadrukt dat het vertrouwen net hersteld zal moeten worden in de toekomst.

Een andere expert vindt het een meerwaarde dat er ook gevraagd wordt naar de mate van bezorgdheid en naar de mate van vertrouwen in verschillende instanties. Bijkomend wordt aanbevolen om andere aspecten te bevragen zoals het gevoel van controle dat mensen hebben en de verwachting of instanties maatregelen gaan nemen om het probleem op te lossen.

5. Studiegebied

Er werden geen opmerkingen geformuleerd over het studiegebied. Eén van de experts haalt wel aan dat een aparte steekproef in Ekeren en Merksem ook nuttig zou kunnen zijn omdat deze regio in één van de overheersende windrichtingen valt en mogelijk ook aan PFAS-emissies via de lucht werd blootgesteld.

6. Humane matrix

Eén van de experts haalt aan dat het niet duidelijk is waarom beargumenteerd wordt dat de meetmethode van urine nog in een experimenteel stadium is. Hierbij wordt verwezen naar Amerikaanse studies¹ die PFAS meten in monsters spot urine.

- Binnen het Europese humane biomonitoringsonderzoek HBM4EU hebben verschillende Europese experts samen een geharmoniseerd protocol opgesteld voor het meten van PFAS-

¹ Calafat et al., 2018 [Legacy and alternative per- and polyfluoroalkyl substances in the U.S. general population: Paired serum-urine data from the 2013–2014 National Health and Nutrition Examination Survey - ScienceDirect](#)
Pritchett et al., 2019 [Notes from the Field: Targeted Biomonitoring for GenX and Other Per- and Polyfluoroalkyl Substances Following Detection of Drinking Water Contamination — North Carolina, 2018 - PMC \(nih.gov\)](#)

blootstelling in de mens. Dit protocol stelt dat serum nog steeds de beste matrix is om PFAS in de mens te meten. De artikels waarnaar door de expert verwezen wordt, komen eigenlijk tot dezelfde conclusie. Calafat et al. (2019) stellen de gemeten PFAS zelden werden waargenomen in de urinestalen. Enkel PFBA en PFHxA konden in een deel van de urinestalen worden waargenomen, respectievelijk bij 13,3% en 26,6%. De auteurs besluiten dat hun resultaten geen ondersteuning bieden om urine te gebruiken om blootstelling aan korte-keten PFAS te monitoren in de algemene bevolking. Ook Pritchett et al. (2018) hebben PFAS gemeten in zowel serum als urine van dezelfde deelnemers en stellen vast dat enkel PFHxA kon worden waargenomen in een urinestaal van één deelnemer.

A.M. Calafat, et al.

Environment International 131 (2019) 105048

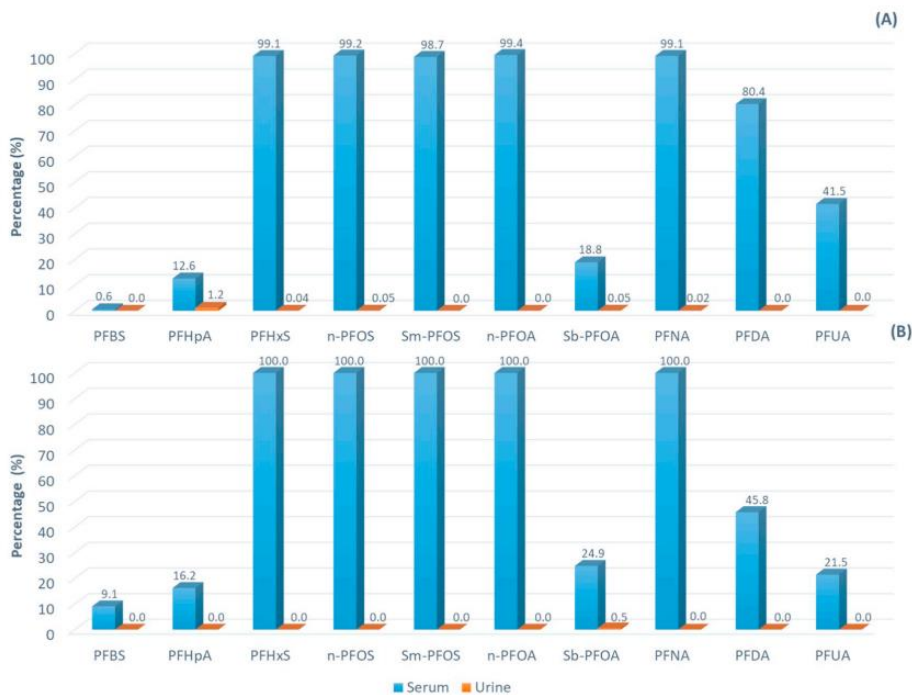


Fig. 2. Estimated proportion of the population with detectable concentrations of individual PFAS in paired 2013–2014 NHANES urine-serum samples by age group: (A) 12+ years of age (N = 2125), and (B) 6–11 years of age (N = 148).

Eén van de experts haalt ook aan dat niet gespecificeerd werd welk type urinestaal er in deze studie zal geïncubated worden. De expert raadt aan om een 24-uurs urinestaal te nemen, waarbij het interessant is om elk monster van die 24 uur apart bij te houden indien nog andere blootstellingsmerkers dan PFAS worden gemeten. Hierbij vermeldt de expert wel dat dit gepaard gaat met een hogere kostprijs en niet het doel is van deze studie.

→ Het document met de studieopzet werd aangepast door te vermelden dat een van iedere deelnemer een staal spot urine zal verzameld worden. Eerdere studies in Vlaanderen hebben namelijk uitgewezen dat jongeren van die leeftijd het erg vervelend vinden om een urinestaal van thuis mee te brengen naar de onderzoekslocatie, zelfs in die mate dat het een reden kan zijn om niet aan de studie deel te nemen. Daarom werd in studies met jongeren verder gewerkt met spot urine die verzameld wordt op de onderzoekslocatie zelf.

7. Matrix leefomgeving

Eén van de experts vraagt meer duidelijkheid over hoe de deelnemers geselecteerd zullen worden waarbij metingen in huisstof en in bodem, groenten, eieren, water en compost zullen worden uitgevoerd.

Studie in opdracht van:

- De 150 jongeren waarbij PFAS in de huisstofstalen zullen worden gemeten, zullen geselecteerd worden op basis van de informatie uit de vragenlijst (o.a. over ventilatiesysteem in de woning) en op basis van de woonplaats van de deelnemers. De 50 jongeren (+ 5 reserves) waarbij ook de overige milieumetingen worden uitgevoerd, worden geselecteerd uit de 150 deelnemers met huisstofmetingen op basis van de selectievragenlijsten uit het geïnformeerd toestemmingsformulier (o.m. over moestuin en kippenren) en op basis van de woonplaats van de deelnemers. Er wordt bij de huisstofmetingen en bij de andere milieumetingen gestreefd naar een goede geografische verdeling binnen het onderzoeksgebied (afstand tot 3M + goede spreiding oost/west). Deze informatie werd toegevoegd in het document met de studieopzet.

Eén van de experts maakt de bedenking dat de voorziene metingen in de milieustalen mogelijk te beperkt zijn om een blootstellingsmodellering uit te voeren. Er wordt verwezen naar recente blootstellingsberekeningen op basis van moestuingroente-metingen in Dordrecht, waarvan het rapport binnenkort beschikbaar komt.

- De blootstellingsmodellering kan enkel gebruik maken van gemeten milieustalen wanneer voldoende analyseresultaten boven de LOQ liggen. Als dit niet het geval is, kan geen rekening gehouden met de betreffende blootstellingsroute voor de modellering. Afhankelijk van de beschikbare resultaten, zal mogelijk de blootstellingsmodellering niet op individueel niveau, maar op groepsniveau uitgevoerd worden waarbij gebruik gemaakt wordt van gemiddelde concentraties.

8. Doelgroep

Er worden door de experts geen bedenkingen gemaakt bij de keuze van jongeren als doelgroep.

Twee experts vragen wel bijkomende informatie over de selectie van de deelnemers, o.a. of er gestreefd wordt naar een gelijke verdeling tussen jongens en meisjes en welke de inclusie- en exclusiecriteria zijn.

- Deze informatie maakt deel uit van de rekruteringsstrategie die tijdens een apart overleg met de lokale adviesgroep werd besproken (28/03/2022). Er zal bij de selectie van de deelnemers gestreefd worden naar een goede weerspiegeling van het onderzoeksgebied, rekening houdend met geslacht en met socio-economische factoren. Inclusiecriteria zijn toestemming verkrijgen van de jongere en van de ouders, een Nederlandstalige vragenlijst kunnen invullen en minstens 5 jaar in het studiegebied wonen. Deelnemers die zwanger zijn of die een behandeling volgen met groeihormonen zullen voor sommige biomerkers uit de statistische analyse gehouden worden. Deelnemers die op internaat zitten, kunnen niet deelnemen aan de milieumetingen.

Eén van de experts is voorstander om bij onvoldoende respons een uitbreiding van de leeftijdsgroep te voorzien, waarbij de argumentatie gebaseerd is op de EFSA-opinie die stelt dat vrouwen in vruchtbare leeftijd een sensitieve subpopulatie zijn in de algemene bevolking door de mogelijke effecten die PFAS blootstelling kan hebben op het immuunsysteem van hun (toekomstige) kind(eren) tijdens de zwangerschap en in de borstvoedingsperiode.

9. Blootstellingsmetingen

Eén van de experts zegt dat de keuze voor het getrapte systeem voor de PFAS-kwantificatie niet slecht is, maar merkt op dat dit een beslissing kan zijn waar men achteraf spijt van kan hebben. De expert is voorstander om in alle monsters dezelfde set van 43 PFAS te meten.

Dezelfde expert stelt ook voor om naast de vertakte vormen van PFOS ook de vertakte vormen van PFOA en PFHxS te meten. Indien dit budgettair een probleem zou vormen, stelt de expert voor om eventueel GenX en ADONA te laten vallen.

10. Effectmerkers

Eén van de experts heeft nog verschillende vragen over de manier waarop de blootstelling – effect associaties zullen worden uitgevoerd, o.a. in welke mate er rekening zal worden gehouden met de complexe verbanden tussen doseringen en effecten, met de mogelijke vertraging tussen de blootstelling en de effecten en met de effecten van combinaties van verschillende stoffen.

- Deze vragen maken onderdeel uit van het statistisch analyseplan dat momenteel nog in opmaak is. Wat blootstelling betreft worden in deze studie enkel PFAS gemeten, geen andere blootstellingsmerkers. Om rekening te houden met de PFAS-groep als geheel, kan in de blootstelling-effect associaties gewerkt worden met de som van PFOS, PFHxS, PFOA en PFNA, waarvoor ook de EFSA-toetsingswaarde werd afgeleid.

Een tweede expert vraagt of er van tevoren een inschatting werd gemaakt of relaties met bepaalde eindpunten met voldoende statistische power kunnen worden getoetst.

- Er werden statistische powerberekeningen uitgevoerd voor zowel binaire effectmerkers als voor continue effectmerkers. Uit deze berekeningen blijkt dat met een groep van 300 deelnemers, waarvan 150 jongens en 150 meisjes effecten van matige sterkte met een power van 80% zouden kunnen worden waargenomen. Naast de grootte van de steekproef, is het vinden van significante associaties ook afhankelijk van de aanwezige variatie van zowel de blootstelling als de effectmerkers in de studiepopulatie. De powerberekeningen zijn opgenomen in bijlage 3.

Dezelfde expert vraagt ook of er bewust gekozen is om IgG niet op te nemen bij de gemeten immunoglobulines en of er overwogen is om te kijken naar specifieke antistoffen na vaccinatie.

- We hebben de meting van IgG antilichamen overwogen en besproken met een expert. Deze gaf aan dat, optimaal gezien, vaccin-specifieke IgG-metingen nodig zijn voor en na een vaccinatie om de relatie PFAS-vaccinatierespons goed in te schatten. In NHANES werd eerder wel gekeken naar de IgG titers bij jongeren tegen mazelen rubella en bof, inentingen die ze als kind kregen. Maar de auteurs van de studie (Stein et al., 2016)² twijfelen aan de klinische relevantie van de metingen omdat het titer-gehalte bij al de deelnemers zeer hoog ligt. In de huidige studie richten we ons op metingen en biomerkers waarvan het verband met PFAS in cross-sectioneel onderzoek wetenschappelijk onderbouwd is. Een studie naar PFAS-blootstelling en vaccinatierespons obv IgG's in een specifiek daartoe opgezette studie (analyses voor en na vaccinatie) zou een goede aanvulling zijn op het huidige onderzoek, maar is momenteel niet voorzien.

Deze expert is ook geen voorstander van de meting van de micronucleus of komeettest omdat de associatie met PFAS-blootstelling onzeker is. De expert haalt aan dat PFAS aangetoond niet

² Stein, C.R.; McGovern, K.J.; Pajak, A.M.; Maglione, P.J.; Wolff, M.S. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances and indicators of immune function in children aged 12-19 y: National Health and Nutrition Examination Survey. *Pediatr. Res.* 2016, 79, 348–357, doi:10.1038/pr.2015.213.

mutageen/clastogeen zijn, maar dat sommige PFAS mogelijk kanker veroorzaken via een aangenomen niet-genotoxisch mechanisme en verwijst hiervoor naar de literatuur³.

De expert vraagt ook of het duidelijk is wanneer er bij verstoorde werking/functie/ontwikkeling/respons sprake is van klinisch relevante verstoring.

→ In het statistisch analyseplan zal voor de verschillende biomerkers worden opgenomen of er klinische grenswaarden bestaan en welke deze zijn.

Een derde expert twijfelt aan het gebruik van gezondheidsmerkers in dergelijk onderzoek en stelt voor om de gezondheidsmerkers weg te laten. Volgens de expert gaan ze geen bruikbare informatie opleveren over de gezondheidseffecten van PFAS en scheppen ze verwachtingen dat er conclusies kunnen getrokken worden over de relatie tussen blootstelling en gezondheid. Volgens deze expert is de kans groot dat mensen zullen teleurgesteld worden omdat volgens de expert uitspraken zowel op individueel niveau als op groepsniveau niet mogelijk zullen zijn omwille van de momentopname in een beperkte onderzoekspopulatie.

11. Andere opmerkingen

Twee experts vragen meer informatie over hoe er informatie verkregen wordt over de confounders en covariaten, welke confounders er zullen bekeken worden en welke statistische analyses er gepland zijn.

→ De informatie nodig voor de confounders of voor het beantwoorden van bepaalde onderzoeksvragen zal grotendeels verkregen worden uit vragenlijsten. De deelnemers en hun ouders zullen vragenlijsten invullen waarin gepeild wordt naar hun persoonskenmerken, hun gewoontes, voeding, consumptie van eigen en lokaal geteelde voeding, kenmerken van de woning, kenmerken van de tuin en de kippen(ren), gebruik van producten, verhuisgeschiedenis, (familiale) gezondheid en socio-economische parameters. Aanvullend zal ook geografische informatie berekend worden en zal er ook informatie uit andere databanken worden meegenomen (vb. luchtkwaliteit, gegevens uit de databank van het Centrum voor Leerlingenbegeleiding). Informatie over de statistische verwerking zal worden opgenomen in het statistische analyseplan, dat momenteel wordt opgesteld. In het document over de studieopzet werd een bijkomende paragraaf opgenomen om dit duidelijk te maken.

Door één van de experts werd ook een uitgebreide lijst literatuur doorgegeven.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7530144/pdf/nihms-1627933.pdf>

Panieri et al (2022): main PFAS categories and subgroups -

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8878656/pdf/toxics-10-00044.pdf>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6380916/pdf/nihms-1511971.pdf>

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31280095/>

Proposal for coordinated health research in PFAS-contaminated communities in the United States - https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5684738/pdf/12940_2017_Article_321.pdf

³ [In vitro toxicological characterization of perfluorinated carboxylic acids with different carbon chain lengths - ScienceDirect](#)

Nilsson et al 2021 - Analytical uncertainties in a longitudinal study - A case study assessing serum levels of per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34649073/>

What are the effects of PFAS exposure at environmentally relevant concentrations? - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563917/>

Legacy and emerging PFAS - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7863963/pdf/ijms-22-00995.pdf>

Strategies for grouping per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) to protect human and environmental health - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7585739/pdf/nihms-1603696.pdf>

(PFAS) in livestock and game species: A review - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33609849/>

Exposure assessment of PFAS-contaminated sites using avian eggs as a biomonitoring tool - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33764673/>

Perfluoroalkyl contaminants in eggs from backyard chickens reared in Italy - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34102511/>

Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: A review - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30502744/>

Assessing Human Health Risks from Per- and Polyfluoroalkyl Substance (PFAS)-Impacted Vegetable Consumption: A Tiered Modeling Approach - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33200604/>

Uptake and accumulation of per- and polyfluoroalkyl substances in plants - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32717507/>

Herzke et al (2013) - Perfluorinated alkylated substances in vegetables collected in four European countries; occurrence and human exposure estimations - Belgium, Czech Republic, Italy and Norway - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23686789/>

Prevalence and Implications of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Settled Dust - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34985714/>

World-Wide Indoor Exposure to Polyfluoroalkyl Phosphate Esters (PAPs) and other PFASs in Household Dust - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26000882/>

Human exposure pathways to poly- and perfluoroalkyl substances (PFAS) from indoor media: A systematic review - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412022000757?via%3Dihub>

A critical review of modeling Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFAS) in the soil-water environment - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33303199/>

Health and social concerns about living in three communities affected by per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): A qualitative study in Australia - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7808650/pdf/pone.0245141.pdf>

Barouki R. Endocrine disruptor compounds and new mechanisms of toxicity networks. Rev Prat. 2018 Dec;68(10):1069-1074)