

---

# JONGERENSTUDIE HBM

---

## - OMGEVING 3M

---

Studieopzet / 23.08.2022

---



Studie in opdracht van:



## INHOUD

1	Samenvatting .....	3
2	Doel van dit onderzoek .....	4
3	Doel van dit document.....	5
4	Situering ten opzichte van andere studies.....	7
5	Wat is humane biomonitoring? .....	9
6	Type studieopzet.....	10
7	Onderzoeksvragen .....	10
8	Studiegebied .....	13
9	Te verzamelen materiaal.....	16
9.1	Metingen in de mens	16
9.2	Metingen in de leefomgeving	17
9.3	Informatie over invloedsfactoren	18
10	Doelgroep.....	19
11	Blootstellingsmerkers .....	22
12	Effectmerkers .....	25

# 1 SAMENVATTING

Om de impact van de PFAS-verontreiniging in de omgeving van 3M verder in kaart te brengen, gaf de Vlaamse overheid de opdracht tot een wetenschappelijke humane-biomonitoringstudie. Deze studie heeft als doel (i) nagaan in welke mate jongeren in de omgeving van 3M zijn blootgesteld aan een uitgebreide set PFAS, (ii) meer inzicht verkrijgen in de (vroegtijdige) gezondheidssignalen die verband houden met deze blootstelling in de geselecteerde leeftijdsgroep en (iii) het relatieve belang van de verschillende blootstellingsroutes<sup>1</sup> voor deze leeftijdsgroep in kaart brengen.

Het doel van de studie wordt omgezet in specifieke onderzoeksvragen die we willen beantwoorden. Daarna start de studie met het uittekenen van de studieopzet die moet toelaten een antwoord te kunnen formuleren op die onderzoeksvragen. Deze studieopzet bestaat uit het vastleggen van het onderzoeksgebied (waar gaan we meten?), de keuze van het te verzamelen materiaal (waarin gaan we meten?), de keuze van de doelgroep (wie zijn de deelnemers?) en de keuze van de biomerkers (wat gaan we meten?).

De onderzoekers die de studie uitvoeren, formuleerden een gemotiveerd voorstel voor de studieopzet. Dit voorstel werd afgetoetst bij de stuurgroep van de studie, samengesteld uit de opdrachtgever en vertegenwoordigers van verschillende overheden en agentschappen, en werd ook afgetoetst bij de lokale adviesgroep. Op basis van de verkregen feedback werd de studieopzet verder verfijnd en gefinaliseerd.

## Studieopzet

Deze studie volgt een cross-sectionele studieopzet. Dit wil zeggen dat er een momentopname wordt gemaakt van de PFAS-lichaamsbelasting en vroegtijdige gezondheidssignalen bij de deelnemers. De resultaten zijn een eerste exploratie van de mogelijke gezondheidssignalen die samengaan met de PFAS-blootstelling in opgroeiende jongeren in de regio rond 3M en welke factoren hier een invloed op hebben. De studie is één van de puzzelstukken om de situatie in kaart te brengen.

### Waar meten?

Het studiegebied is een cirkelvormige zone met een straal van 5 km rond het centrum van de 3M-site. Het studiegebied omvat volledig de gemeente Zwijndrecht, een deel van de gemeente Beveren, een deel van de gemeente Antwerpen (Linkeroever en een klein deel van rechteroever) en een klein deel van de gemeente Kruibeke.

### Waar in meten?

In dit studiegebied is voorzien om 300 deelnemers te rekruteren die bereid zijn monsters van bloed en urine te laten afnemen. Bij deze deelnemers zal ook huisstof verzameld worden, waarvan voorzien is om bij een selectie van 150 deelnemers PFAS in huisstof te meten. Bij 50 van deze deelnemers zullen ook PFAS gemeten worden in bodem van de eigen moestuin, bodem van de kippenren, groenten, eieren, compost en regenwater.

### Bij wie meten?

---

<sup>1</sup> Manier waarop een vervuilde stof vanuit de leefomgeving in het lichaam komt

De doelgroep bestaat uit jongeren van 14-15 jaar omdat zij een goede weerspiegeling vormen van de lokale situatie van de voorbije 15 jaar, in een ontwikkelingsstadium zitten dat gevoelig is aan PFAS-blootstelling en omdat er momenteel in die regio weinig blootstellingsgegevens beschikbaar zijn voor niet-volwassenen.

#### Wat meten?

Er is voorzien om PFAS-componenten te meten in serum, bodem van de moestuin, bodem van de kippenren, groenten, eieren, compost, regenwater en huisstof.

Er is ook voorzien om exploratieve informatie te verzamelen over verschillende gezondheidssignalen via metingen in bloed of in urine, via parametermetingen (bloeddruk, lengte, gewicht) en via vragenlijsten of bestaande (medische) datasets. De gezondheidssignalen die worden voorgesteld zijn merkers voor verhoogde cholesterol, verstoorde immuunrespons, verstoorde leverfunctie, verstoorde schildklierwerking, verstoorde puberteitsontwikkeling, verstoorde nierfunctie, DNA-schade, verhoogde bloeddruk, obesitas, diabetes en ADHD.

De studie zal dus een beeld geven van de PFAS-lichaamsbelasting en de vroegtijdige gezondheidssignalen die jongeren die wonen en opgroeien in deze regio momenteel ondervinden, na een blootstelling van 15 jaar. De resultaten kunnen gebruikt worden om richting te geven aan mogelijke toekomstige studies die incidenties<sup>2</sup> van gezondheidseffecten ten gevolge de PFAS-blootstelling onderzoeken. Het gebruik van vroegtijdige gezondheidssignalen biedt ook de mogelijkheid om gerichte preventieve maatregelen te nemen die gezondheidsschade op latere leeftijd kunnen beperken.

## 2 DOEL VAN DIT ONDERZOEK

Rond de 3M site in Zwijndrecht is er sinds de Oosterweel-werken grote bezorgdheid ontstaan over de historische en huidige vervuiling van de omgeving met perfluorverbindingen. Poly- en perfluoralkylstoffen (afgekort als PFAS) is een verzamelnaam voor meer dan 6000 stoffen die gebruikt worden in diverse toepassingen om producten vet-, water- of stofafstotend te maken. 3M is een belangrijke producent van PFAS. Doorheen de jaren is de omgeving van de fabriek vervuild geraakt met PFAS. Omwille van de persistentie blijven deze stoffen lang in de omgeving aanwezig en komen ze ook in het lichaam van mens en dier terecht, waarin ze zich kunnen opstapelen. Dit is zorgwekkend omdat PFAS schadelijke effecten kunnen hebben op de gezondheid: sommige PFAS zijn bijvoorbeeld hormoonverstoring, mogelijk kankerverwekkend en verminderen de afweer van het lichaam. Voor vele PFAS zijn de gezondheidseffecten nog niet in kaart gebracht.

Om de nodige maatregelen te kunnen nemen om de volksgezondheid te beschermen, is het belangrijk dat de situatie rond de 3M site goed in kaart wordt gebracht. Hiervoor werden verschillende initiatieven opgestart in Zwijndrecht en in de omliggende gemeenten, zoals bijkomende metingen in bodem (o.a. door de Openbare

---

<sup>2</sup> Nieuwe gevallen van een bepaald gezondheidseffect tijdens een bepaalde periode

Vlaamse Afvalstoffenmaatschappij), metingen in de omgevingslucht (Vlaamse Milieumaatschappij), een bloedonderzoek in een beperkte omgeving rond 3M (Agentschap Zorg en Gezondheid). Er is tevens een lopend doctoraatsonderzoek van de universiteit Antwerpen op PFAS in eigen-geteeld voedsel van private tuinen en de mogelijke invloed hierop van bodemeigenschappen.

Het doel van deze studie is

1. nagaan in welke mate jongeren in de omgeving van 3M zijn blootgesteld aan een uitgebreide set PFAS,
2. meer inzicht verkrijgen in de (vroegtijdige) gezondheidseffecten die verband houden met deze blootstelling in de geselecteerde leeftijdsgroep in deze regio,
3. het relatieve belang van de verschillende blootstellingsroutes voor deze leeftijdsgroep in deze regio in kaart brengen.

Hiervoor zal een humane-biomonitoringstudie worden uitgevoerd, gekoppeld aan milieumetingen en een blootstellingsmodellering. Deze informatie zal handvaten bieden aan de overheid en andere actoren om een gericht, evidence-informed beleid uit te werken, waaronder een evaluatie en eventuele aanpassing van de recent afgekondigde adviezen aan de bevolking om de blootstelling te verminderen en de gezondheid te beschermen ('no regret' maatregelen). Deze inzichten zullen ook een basis vormen voor gezondheidsbeschermende maatregelen in andere PFAS-risicolocaties, waarbij steeds rekening moet worden gehouden met de kenmerken van de lokale situatie.

### 3 DOEL VAN DIT DOCUMENT

Dit document geeft een beschrijving van de studieopzet, meer bepaald de onderzoeksvragen, de afbakening van het studiegebied, welke verschillende stalen er verzameld worden, wat er in de stalen zal gemeten worden en wie de doelgroep is. Het is een publiek document dat raadpleegbaar is op de projectwebsite.

#### **Aanpak**

De onderzoekers die de studie uitvoeren, formuleerden een gemotiveerd voorstel voor de studieopzet. Dit voorstel werd afgetoetst bij de stuurgroep van de studie, samengesteld uit de opdrachtgever en vertegenwoordigers van verschillende overheden en agentschappen, en werd ook afgetoetst bij de lokale adviesgroep, samengesteld uit o.a. vertegenwoordigers van de betrokken gemeenten, actiegroepen, lokale milieuverenigingen, en lokale medische sector (zie verslag lokale adviesgroep 28/02/2022). Aan de lokale adviesgroep werd onderstaande feedback gevraagd (Tabel 1).

Tabel 1: Vragen die aan de lokale adviesgroep werden gesteld voor feedback op de voorgestelde studieopzet

<b>Vragen over de situering en benaming van de studie</b>
- Bijkomende suggesties om het onderscheid tussen deze studie en beide bloedonderzoeken nog duidelijker te maken
- Eventuele suggesties voor de benaming van deze studie: HBM-studie, HBM-onderzoek, andere voorstellen?
<b>Vragen over het studiegebied (= straal van 5 km rond het centrum van 3M met uitbreidingszone)</b>
- Of de Schelde al dan niet moet opgenomen worden als bijkomende begrenzing van het studiegebied
- Feedback over de verschillende opties voor de uitbreidingszone
<b>Vragen over het meten van blootstelling in de mens in serum</b>
- Dit is een beslissing die zo goed als vast staat en weinig ruimte biedt voor aanpassingen. Suggesties, vragen of bezorgdheden van lokale actoren hierover mogen steeds worden overgemaakt en kunnen aan het onderzoekerspanel worden voorgelegd voor bijkomende verduidelijkingen.
<b>Vragen over het meten van PFAS in de leefomgeving: bodem van de tuin/kippenren, eieren, groenten, compost, regenwater, huisstof</b>
- Binnen het voorziene budget is er weinig ruimte voor aanpassingen of aanvullingen in de studieopzet. Indien de lokale actoren bij de bevolking ongerustheid of bezorgdheden hebben opgevangen over milieucompartimenten die hier niet aan bod komen, kunnen deze steeds worden gesignaleerd. Samen met het onderzoekerspanel en de opdrachtgevers kan bekeken worden op welke manier deze bezorgdheden kunnen worden opgevangen.
<b>Vragen over de doelgroep (= 300 jongeren van 14-15 jaar)</b>
- Voornaamste argumenten voor deze doelgroep zijn de goede weerspiegeling van de lokale situatie, de gelegenheid om bijkomende blootstellingsgegevens te verzamelen van een bevolkingsgroep waarvan nu nog onvoldoende gegevens beschikbaar zijn en een ontwikkelingsstadium dat gevoelig is aan PFAS-blootstelling maar wel voorafgaand aan de vruchtbare periode.
- Indien er vanuit de lokale actoren sterke argumenten zijn voor een andere keuze van doelgroep, dan noteren we die graag om ze binnen het onderzoekerspanel te bespreken en systematisch af te wegen tegen het voorliggende voorstel.
<b>Vragen over de selectie PFAS-componenten</b>
- Relevante PFAS voor de huidige of historische productieprocessen in 3M
<b>Vragen over de selectie van de biomerkers van effect</b>
- Bijkomende informatie over lokale bezorgdheden of eventueel signalen van huisartsen op basis van hun ervaringen in de regio.

Op basis van alle verkregen feedback werd de studieopzet verder verfijnd en gefinaliseerd. Daarna werd de studieopzet voorgelegd aan vier externe experts uit Vlaanderen en Nederland met de vraag of zij vanuit hun eigen expertise knelpunten zagen. Op basis van hun reacties werden verdere verfijningen en



verduidelijkingen aangebracht in het document. Een samenvatting van de verkregen feedback is terug te vinden in bijlage 2.

## 4 SITUERING TEN OPZICHTE VAN ANDERE STUDIES

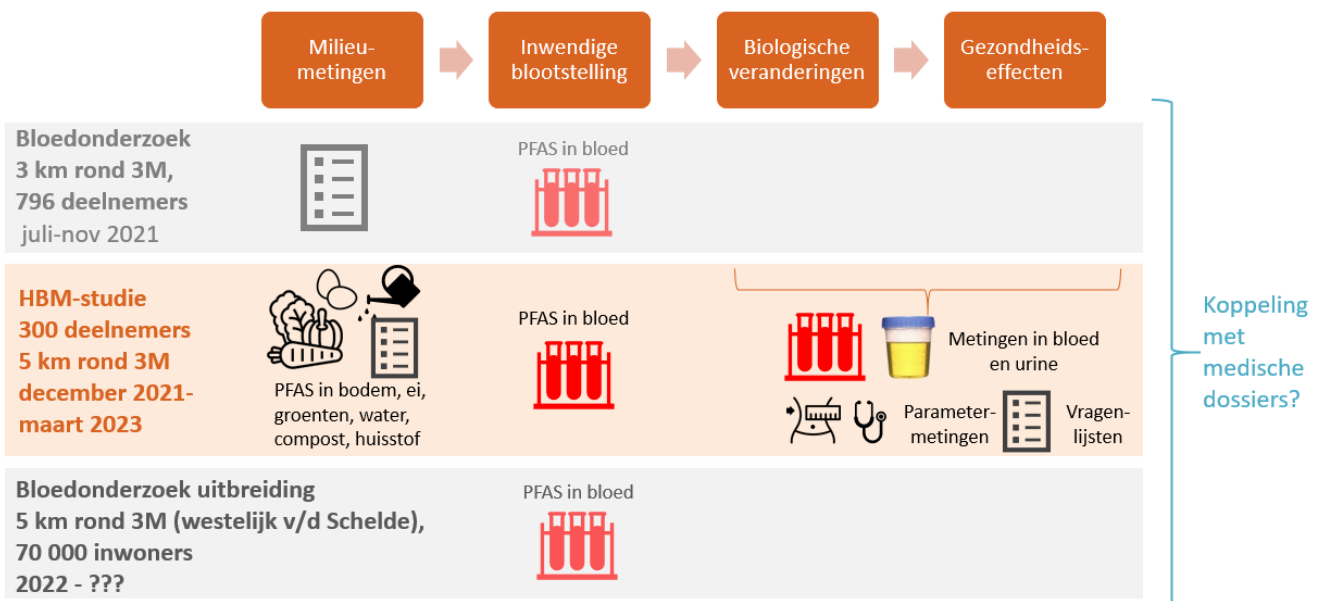
In de regio rond 3M heeft de Vlaamse overheid het initiatief genomen tot – momenteel - drie studies waarbij humane monsters worden afgenomen van inwoners in een afgebakende zone rond 3M (Figuur 1):

- **Bloedonderzoek binnen 3 km rond 3M**
  - o Wie? 800 inwoners van de afgebakende zone, vanaf de leeftijd van 12 jaar, konden zich vrijwillig aanbieden om een bloedmonster te laten afnemen. Uiteindelijk hebben 796 deelnemers zich aangeboden.
  - o Looptijd? Juli – november 2021
  - o Schakel in de blootstelling-effect keten? 1 schakel: de inwendige blootstelling aan PFAS werd gemeten in het bloed.
  - o Financiering? Agentschap Zorg en Gezondheid
- **HBM-studie binnen 5 km rond 3M (= deze studie)**
  - o Wie? Maximum 300 deelnemers van een vooraf bepaalde leeftijdsgroep die op uitnodiging door de onderzoekers kunnen deelnemen. Door te werken met uitnodigingen wordt getracht een gelijkmatige spreiding over het studiegebied te verkrijgen en een deelnemersgroep die representatief is voor die leeftijdsgroep in deze regio.
  - o Looptijd? December 2021 – maart 2023
  - o Schakel in de blootstelling-effect keten? Alle 4 schakels: er zijn metingen voorzien in milieumonsters genomen in de leefomgeving van de deelnemers, metingen van inwendige PFAS-blootstelling in bloed, metingen van meerdere vroegtijdige biologische effecten in het lichaam en gegevens over een aantal gezondheidseffecten.
  - o Financiering? Het departement Omgeving van de Vlaamse overheid.
- **Uitbreiding van het bloedonderzoek binnen 5 km rond 3M**
  - o Wie? Op basis van de eerste bloedresultaten besliste de Vlaamse minister van Volksgezondheid om alle ( $\pm$  70 000) inwoners binnen een zone van 5 km rond 3M en ten westen van de Schelde de gelegenheid te geven PFAS in hun bloed te laten meten.
  - o Looptijd? Vermoedelijk start in 2022 en looptijd over meerdere jaren
  - o Schakel in de blootstelling-effect keten? Voorlopig 1 schakel voorzien: meten van de inwendige blootstelling aan PFAS in het bloed.
  - o Financiering? Agentschap Zorg en Gezondheid

Momenteel wordt ook de haalbaarheid onderzocht om de PFAS-gehalten die gemeten werden in bloed te koppelen aan de medische dossiers van deze personen die ter beschikking zijn bij de huisartsen. Indien dit mogelijk blijkt, zouden de resultaten van de hogervermelde drie studies kunnen samengevoegd worden met

de medische gegevens van deze deelnemers om associaties tussen PFAS-serumgehalten en medische gegevens te bestuderen.

## Blootstelling-effect keten



Figuur 1: Situering van deze HBM-studie ten opzichte van andere studies met humane monsters in deze regio.

Om het onderscheid tussen deze studie en beide bloedonderzoeken duidelijk te maken, werd ervoor gekozen om de doelgroep en de gebruikte techniek in de naam van de studie te verwerken, zijnde

- Korte titel: Jongerenstudie HBM – omgeving 3M
- Lange titel: Jongerenstudie humane biomonitoring – omgeving 3M



## 5 WAT IS HUMANE BIOMONITORING?

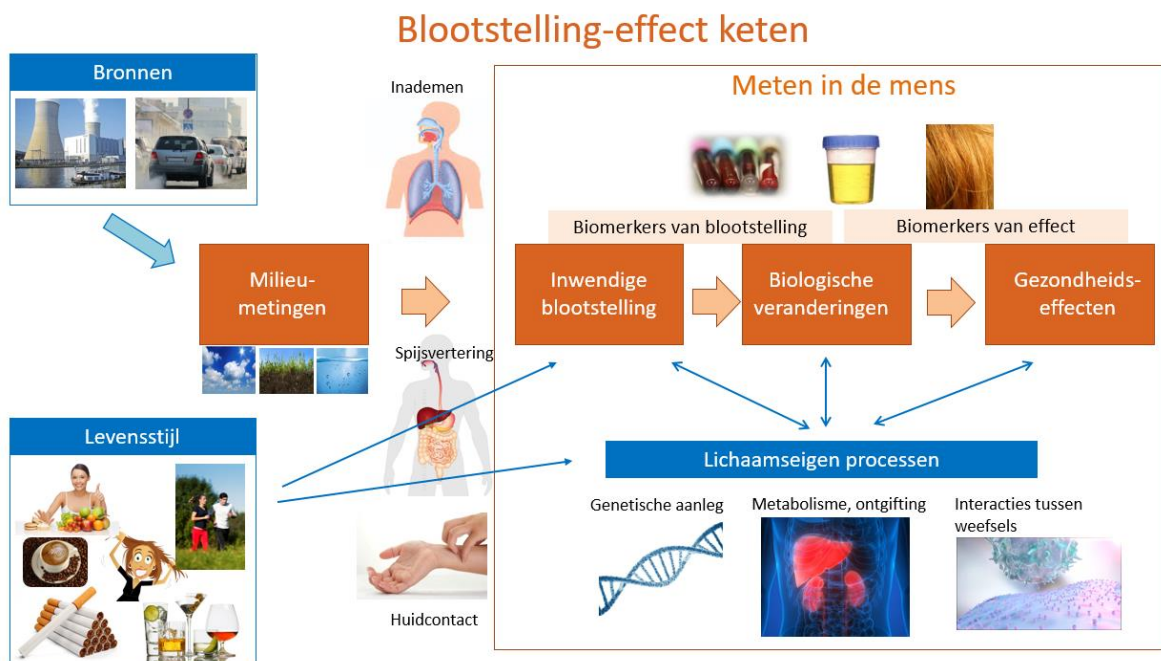
### Wat is humane biomonitoring?

Humane biomonitoring betekent 'meten in de mens'. Het is een meettechniek die toelaat blootstelling aan chemische stoffen en hun effecten in het lichaam te meten door de chemische stoffen, hun afbraakproducten of hun reactieproducten te meten in menselijk materiaal zoals bloed of urine.

Een biomerker van blootstelling weerspiegelt de totale lichaamsbelasting van één of meerdere verontreinigende stoffen. Deze blootstelling kan afkomstig zijn van verschillende bronnen en via verschillende blootstellingswegen (spijsvertering, inademen, huidcontact, enz.) in het lichaam terecht komen.

Een biomerker van effect weerspiegelt een biologisch verandering of een gezondheidseffect in het lichaam dat beïnvloed wordt door één chemische stof, een mengsel aan verontreinigingen, of andere invloeden (zoals straling).

De biomerkers worden ook beïnvloed door persoonlijke kenmerken zoals genetische aanleg of individuele factoren zoals lichaamsgewicht of leeftijd. Daarnaast kunnen ook levensstijlfactoren van belang zijn, bijvoorbeeld roken, voldoende bewegen of gezond eten. In het HBM-onderzoek houden we zo veel mogelijk rekening met deze invloedsfactoren.



## 6 TYPE STUDIEOPZET

Deze studie volgt een analytische cross-sectionele studieopzet. Dit is een observerend type onderzoek waarbij gegevens verzameld worden van een bepaalde populatie op een bepaald tijdstip<sup>3</sup>. Dit wil zeggen dat er in deze studie een momentopname wordt gemaakt van de PFAS-lichaamsbelasting en vroegtijdige gezondheidssignalen bij de deelnemers. In de studie wordt nagegaan in welke mate de lichaamsbelasting aan PFAS geassocieerd is met de prevalentie (= de aanwezigheid) van vroege gezondheidssignalen in de studiepopulatie en in welke mate persoonlijke kenmerken, gedrag en omgevingskenmerken de waargenomen variatie in de studiepopulatie kunnen verklaren.

Omdat de blootstelling en de gezondheidsparameters op hetzelfde tijdstip worden gemeten, geven dit type studies weinig informatie over causale verbanden tussen blootstelling en gezondheid. De resultaten van deze studie kunnen dan ook niet aangegrepen worden om te staven dat er geen causaliteit is tussen PFAS-blootstelling en gezondheidseffecten. Studies die meer informatie geven over causaliteit vragen gewoonlijk een investering van meerdere jaren omdat bijvoorbeeld studiepopulaties in de tijd worden opgevolgd en het ontwikkelen van gezondheidseffecten meerdere jaren kan duren of omdat gezondheidseffecten bij een beperkt percentage van de bevolking aanwezig is (zoals diabetes of kanker) en er meerdere jaren nodig zijn om voldoende aantallen gevallen te bekomen die statistisch kunnen geïnterpreteerd worden.

De analytische cross-sectionele opzet heeft het voordeel dat er op relatief korte tijd gegevens kunnen verzameld worden over de aanwezigheid van gezondheidssignalen in een bevolkingsgroep en de mogelijke associatie met de blootstelling kan onderzocht worden. Wanneer deze associaties ondersteund worden door gelijkaardige bevindingen in andere wetenschappelijke studies en/of door aangetoonde causale verbanden in proefdierstudies, dan versterkt dit de bewijskracht van de resultaten. De resultaten kunnen richting geven aan toekomstige studies.

## 7 ONDERZOEKSVRAGEN

De doelstellingen van de studie werden vertaald naar specifieke onderzoeksvragen.

**Doel 1:** nagaan in welke mate jongeren in de omgeving van 3M zijn blootgesteld aan een uitgebreide set PFAS

Onderzoeksvragen met grote zekerheid te beantwoorden:

- Welke PFAS-gehalten komen voor in het lichaam van jongeren in het studiegebied?

---

<sup>3</sup> [Cross-Sectional Studies \(chestnet.org\)](https://chestnet.org)

- Welke PFAS zijn meetbaar in serum van de jongeren?
- Welk aandeel van de deelnemers heeft meetwaarden boven de beschikbare gezondheidskundige toetsingswaarden?
- Welke zijn de dominante PFAS bij deze leeftijdsgroep?
- Welke PFAS-gehalten komen voor in de leefomgeving (bodem, groenten, eieren, regenwater, compost, huisstof) van de deelnemers?
  - Welke van de gemeten PFAS komen in de leefomgeving van de deelnemers voor in detecteerbare gehalten?
  - Welke zijn de dominante PFAS in de leefomgeving van de deelnemers?

Onderzoeksvragen met beperkte zekerheid te beantwoorden:

- Hoe verhouden de meetresultaten van deze studie zich tot de resultaten in Vlaanderen en in Europese en internationale studies?

Aard van de onzekerheid: In welke mate vergelijking met andere studieresultaten mogelijk is, hangt af van de mate waarin de gekozen leeftijdsgroep overeenkomt met de studiepopulaties in die andere studies. Gezien PFAS in het lichaam kunnen opstapelen doorheen de tijd, kunnen in oudere studiepopulaties hogere gehalten voorkomen dan in jongere studiepopulaties. Bovendien is er door geldende wetgeving en beperkingen in productie en toepassingen ook verandering in de PFAS-gehalten doorheen de tijd. Een vergelijking gebeurt dus best met studies in een gelijkaardige leeftijdsgroep en bemonsterd in een gelijkaardige tijdsperiode.

**Doel 2: meer inzicht verkrijgen in de (vroegtijdige) gezondheidseffecten die verband houden met deze blootstelling in de geselecteerde leeftijdsgroep in deze regio**

Onderzoeksvragen met grote zekerheid te beantwoorden:

- In welke mate komen er bij de jongeren van het studiegebied biologische effecten/gezondheidseffecten voor die relevant zijn voor blootstelling aan PFAS (prevalentie of aanwezigheid van gezondheidssignalen)?
- Kunnen er associaties worden vastgesteld tussen de waargenomen PFAS-gehalten in serum en de waargenomen biologische effecten/gezondheidseffecten in deze leeftijdsgroep?

**Doel 3: het relatieve belang van de verschillende blootstellingsroutes voor deze leeftijdsgroep in deze regio in kaart brengen**

Onderzoeksvragen met grote zekerheid te beantwoorden:

- Is de PFAS-blootstelling in het serum van deze leeftijdsgroep geassocieerd met:
  - de geografische ligging t.o.v. gekende PFAS-bronnen?
  - persoonskenmerken?
  - specifieke gedragspatronen van de deelnemers en/of kenmerken van de woning?



Onderzoeksvragen met beperkte zekerheid te beantwoorden:

- Is de PFAS-blootstelling in het serum van deze leeftijdsgroep geassocieerd met de milieumetingen (bodem, groenten, eieren, huisstof)?

Aard van de onzekerheid: Wanneer de monsters in deze studie worden verzameld, zullen de no regret maatregelen al ongeveer een jaar van toepassing zijn. Deelnemers die deze adviezen hebben opgevolgd, zullen hun consumptie van eigen of lokaal geteelde voeding beperkt of gestopt hebben. Dit kan een invloed hebben op het al dan niet vinden van correlaties tussen de PFAS-gehalten in bijvoorbeeld eieren en groenten en de PFAS-gehalten in serum van dezelfde deelnemers. Dit heeft minder invloed op de lange-keten-PFAS omdat deze een lange verblijftijd hebben van enkele jaren. Voor de korte-keten-PFAS met een verblijftijd van enkele maanden of dagen kan dit wel een grotere invloed hebben op de resultaten.

- Zijn de gehalten in de milieucompartimenten van de leefomgeving van de deelnemers (bodem, groenten, eieren, huisstof) geassocieerd met kenmerken van die leefomgeving?

Aard van de onzekerheid: De onzekerheid tot het bekomen van significante resultaten zit enerzijds in het aantal voorziene meetplaatsen (50). Indien deelnemers reeds beschikken over meetgegevens in hun groenten of eieren kunnen deze aan de dataset worden toegevoegd zodat een grotere dataset bekomen wordt. Daarnaast zal ook de aanwezige variatie in kenmerken van de leefomgeving een rol spelen: als er weinig variatie is in kenmerken is de kans om invloedsfactoren te kunnen identificeren kleiner. Ook zijn er voldoende waarnemingen boven de kwantificatielimiet (LOQ) nodig.

- In welke mate kan de relatieve bijdrage van verschillende blootstellingsroutes (inname via (lokale) voeding, inname via bodemdeeltjes/huisstof) aan PFAS (PFOS en PFOA) worden ingeschat bij deze leeftijdsgroep in deze regio?

Aard van de onzekerheid: Om deze berekeningen uit te voeren zijn verschillende gegevens nodig over de eigenschappen en het gedrag van de PFAS-componenten. Deze zijn momenteel nog niet voor alle PFAS-componenten voldoende beschikbaar. Mogelijk beperken de berekeningen zich dan tot de beter gekende PFAS-componenten (PFOS en PFOA). Bovendien is er nood aan voldoende kwantitatieve meetresultaten, wanneer de analyseresultaten volledig of grotendeels onder de LOQ liggen kunnen deze niet meegenomen worden in de blootstellingsmodellering.

#### **Bijkomende onderzoeksvragen over perceptie van de deelnemers**

- Wat is de risicoperceptie van de deelnemers?
- In welke mate is er bij de deelnemers vertrouwen in verschillende instanties?

Deze bijkomende onderzoeksvragen over perceptie werden toegevoegd om de communicatie en de nazorg beter te kunnen afstemmen op de lokale noden.

### Wat te verwachten van deze studie?

De antwoorden op de onderzoeksvragen zullen toelaten inzichten te verwerven op groepsniveau. Deze inzichten zullen een basis vormen voor gezondheidsbeschermende maatregelen deze regio en mogelijk ook in andere PFAS-risicolocaties. Wat de studie ons wél en niet kan leren, is hieronder schematisch weergegeven.



#### Wat kan deze studie ons **wél** leren?

Welke PFAS aanwezig zijn in bloed van jongeren en in de milieumonsters

Welke concentraties PFAS zijn te verwachten in de regio

Of deze gehalten in het lichaam verband houden met gezondheidssignalen op groepsniveau

Welke factoren/blootstellingswegen een invloed kunnen hebben op de PFAS-gehalten



#### Wat kan deze studie ons **niet** leren?

Vanwaar de PFAS per individu exact afkomstig zijn

Wanneer de blootstelling precies heeft plaatsgevonden

Of een persoonlijk gezondheidsprobleem te wijten is aan PFAS, of voorspellen dat mensen ziek gaan worden

## 8 STUDIEGEBIED

Het **studiegebied** wordt vastgelegd op een **cirkelvormig gebied met een straal van 5 km** vanaf het centrum van de 3M-site (Figuur 2). Er wordt **geen bijkomende begrenzing door de Schelde** voorzien, waardoor inwoners van rechteroever die binnen de 5 km zone wonen ook kunnen deelnemen. Het studiegebied omvat volledig de gemeente Zwijndrecht, een deel van de gemeente Beveren, een deel van de gemeente Antwerpen (Linkeroever en een klein deel van rechteroever) en een klein deel van de gemeente Kruibeke. De woonkernen situeren zich vooral ten oosten, zuiden en westen van de 3M-site. De noordelijke helft van het studiegebied wordt vooral gedomineerd door industriegebied.

### Motivatie voor de straal van 5km:

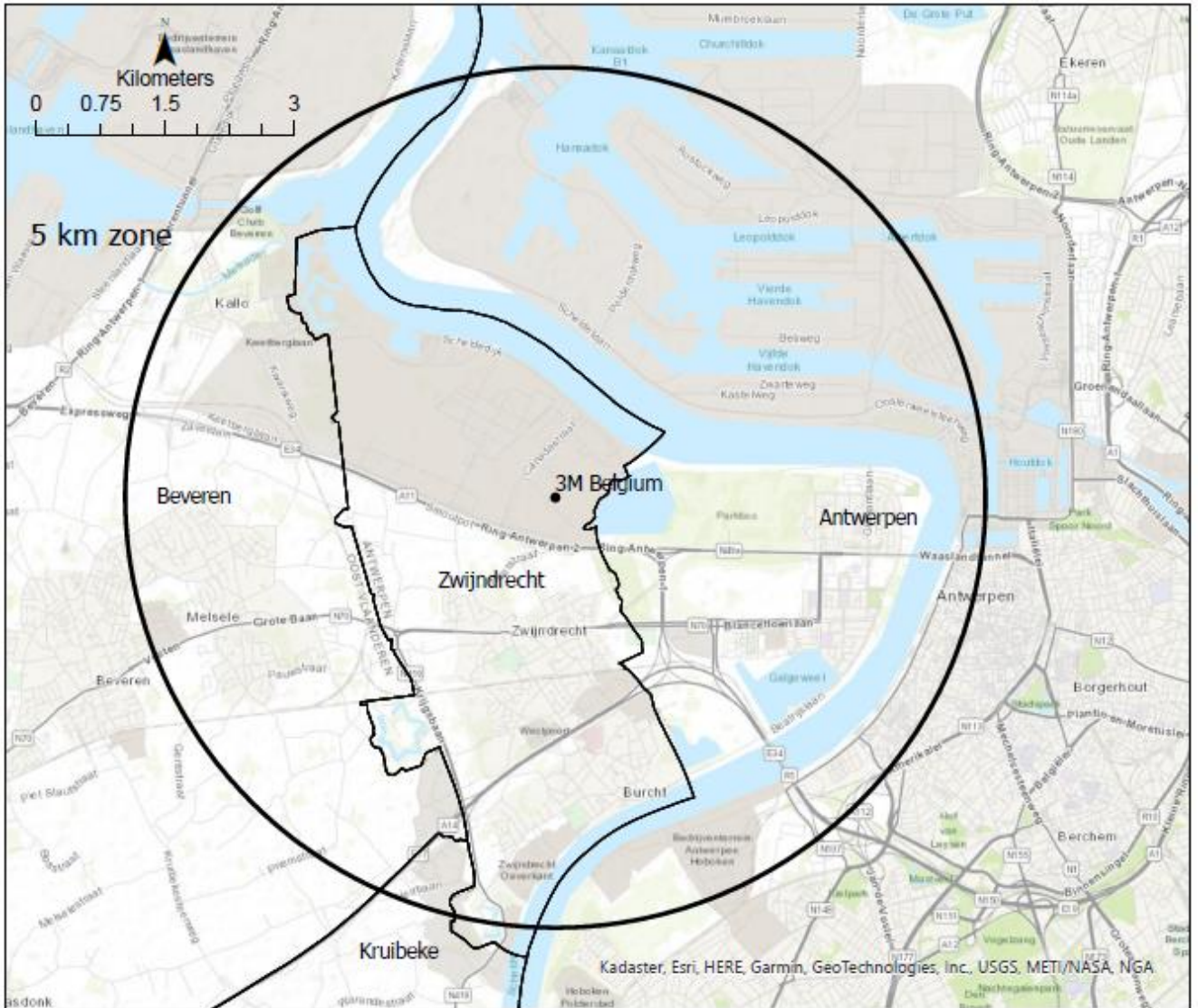
- Het doel van de studie is om de situatie te bestuderen van omwonenden in de directe omgeving van 3M. Daarom maken we het studiegebied best niet te groot. Een groter studiegebied middelt de meetwaarden meer uit.
- Ten noorden van 3M ligt er een grote industriezone. Een sterke uitbreiding van het studiegebied in noordelijke en oostelijke richting zou een grotere en complexe industriële context omvatten die de

centrale onderzoeksvraag zou veranderen naar 'wat betekent wonen nabij een industriezone voor de omwonenden'.

- Uit de resultaten van het bloedonderzoek in juli-november 2021 (in opdracht van het Agentschap Zorg en Gezondheid (AZG)) leren we dat de straal van 3 km te beperkt is en er redenen zijn voor een uitbreiding in zuidwestelijke richting omdat deelnemers ten zuidwesten van 3M gemiddeld een hogere blootstelling hadden aan enkele PFAS dan deelnemers in zuidoostelijke richting.
- De straal van 5 km is een reeds bestaande afbakening en is voor de bevolking mogelijk minder verwarrend dan een nieuwe straalgrootte. De straal van 5 km wordt gebruikt in de adviezen van de no regret-maatregelen en ook in de nog geplande uitbreiding van het bloedonderzoek waarbij AZG alle inwoners binnen deze zone zal aanbieden om een bloedmonster te onderzoeken op PFAS (in het oosten begrensd door de Schelde). Deze bijkomende begrenzing zullen we in deze HBM-studie niet hanteren, waardoor ook inwoners van de rechteroever binnen deze 5 km zone in aanmerking komen voor deelname aan dit HBM-onderzoek.

**Aanpassing op basis van de consultatie van de lokale adviesgroep (28/02/2022)**

Een **uitbreidingsgebied** in geval van een te lage respons wordt nog niet op voorhand afgebakend. Bij onvoldoende respons zullen eerst in samenwerking met de lokale actoren bijkomende inspanningen geleverd worden om de respons binnen de 5 km zone te verhogen. Indien bijkomende acties onvoldoende blijken, zal opnieuw met de lokale actoren worden afgestemd over de te volgen strategie. Die strategie kan bestaan uit een uitbreiding van het studiegebied of een uitbreiding van de leeftijdsgroep (zie bijlage 1). Indien een uitbreiding van het studiegebied dan toch noodzakelijk zou blijken, is er bij een aantal lokale actoren een voorkeur voor een ellipsvormige uitbreiding volgens de overheersende windrichting om de meest relevante zones voor blootstelling op te nemen.



Figuur 2: Studiegebied van de jongerenstudie HBM in de omgeving van 3M als een cirkelvormige zone met een straal van 5 km rond het centrum van de 3M-site.

## 9 TE VERZAMELEN MATERIAAL

### 9.1 METINGEN IN DE MENS

Blootstelling van PFAS in de mens zal gemeten worden in serum. Serum is de vloeistof van het bloed, zonder de bloedcellen, de bloedplaatjes en de stollingsfactoren. Er zal ook volbloed en urine verzameld worden voor metingen van de effectmerkers. Deze metingen zijn voorzien bij alle deelnemers aan dit HBM-onderzoek (zie 9. Doelgroep).

Zowel van serum, volbloed als urine zullen monsters in een biobank bewaard worden gedurende maximaal 30 jaar, als archief voor mogelijke latere bijkomende metingen.

#### Motivatie:

Voor het beantwoorden van de onderzoeksvraag over de blootstelling van inwoners van het studiegebied aan PFAS, zullen PFAS gemeten worden in een humane matrix om een integraal beeld te krijgen van de werkelijke blootstelling, opgenomen via verschillende routes. PFAS hebben zowel vetafstotende als waterafstotende eigenschappen. Hierdoor gaan ze zich niet opstapelen in vetweefsel, zoals de meest persistente stoffen, maar gaan ze in het lichaam vooral binden aan eiwitten. In de wetenschappelijke literatuur worden PFAS het vaakst gemeten in **serum**, dat nog steeds beschouwd wordt als de beste matrix om inwendige blootstelling aan PFAS te meten in de algemene bevolking.

De keuze voor serum is bovendien gebaseerd op volgende argumenten:

- Uit de reeds bestaande onderzoeksgegevens binnen de regio rond 3M blijkt dat de vervuiling voornamelijk bestaat uit PFOS en in tweede instantie uit PFHxS. Voor deze PFAS-componenten is serum de meest aangewezen humane matrix.
- Enkel voor PFAS in serum zijn gezondheidskundige toetsingswaarden beschikbaar.
- PFAS-meetresultaten in de algemene Vlaamse bevolking en van andere hotspot studies zijn eveneens beschikbaar in serum. Om vergelijking met deze studies mogelijk te maken, wordt best in dezelfde matrix gemeten.
- De geharmoniseerde methodologie om interne PFAS-blootstelling te bepalen die binnen het Europese humane biomonitoringsproject HBM4EU ontwikkeld werd, stelt dat serum de beste matrix is.
- De meetmethode van PFAS in urine is nog in een experimenteel stadium en daardoor vatbaar voor discussie. We willen dan ook gebruik maken van een goed gevalideerde meetmethode van PFAS in serum. Omdat recente wetenschappelijke studies suggereren dat urine mogelijk een betere matrix is voor korte keten PFAS, en deze misschien ook relevant zijn voor de omgeving rond 3M, zal een urinemonster in de biobank bewaard worden. Dit biedt de mogelijkheid om nadien nog metingen uit te voeren, als de meetmethode in urine voldoende kwaliteitsvol blijkt.



Naast bloed zal er ook een urinestaal verzameld worden. Het urinestaal is spot urine, dit wil zeggen een urinestaal dat op het moment van het onderzoek wordt afgenomen op de onderzoekslocatie. Eerdere studies in Vlaanderen hebben namelijk uitgewezen dat jongeren van die leeftijd het erg vervelend vinden om een urinestaal van thuis mee te nemen naar de onderzoekslocatie.

## 9.2 METINGEN IN DE LEEFOMGEVING

Voor het beantwoorden van de onderzoeksvragen i.v.m. blootstellingsroutes wordt de focus gelegd op de milieucompartimenten in de directe omgeving van de deelnemers, zijnde

- Bodem van de moestuin
- Bodem van de kippenren
- Compost
- Groenten uit eigen tuin: 4 verschillende soorten groenten, bij voorkeur een bladgewas (sla, alternatief: rabarber), een wortelgewas (wortelen), een knolgewas (aardappel) en een 4<sup>de</sup> te kiezen gewas afhankelijk van de teeltgewoonten van de deelnemer (bij voorkeur een peulgewas).
- Eieren van eigen kippen
- Regenwater
- Huisstof

In de budgetberekening is volgende bemonstering voorzien:

- Bij 300 deelnemers bemonstering van huisstof: 1 mengmonster huisstof, samengesteld uit huisstof van de woonkamer en van de slaapkamer van de deelnemer. Deze bemonstering wordt aan alle deelnemers aangeboden, maar is facultatief. Het werkelijke aantal deelnemers dat toezegt kan dus lager liggen dan 300.
  - Bij 150 deelnemers: PFAS-bepaling in huisstof (huisstof van andere deelnemers komt in een specimenbank voor eventuele latere analyses)
    - Bij 50 van die 150 deelnemers: 1 mengmonster bodem van de moestuin, 1 mengmonster bodem van de kippenren, 4 verschillende groenten uit eigen tuin, 1 mengmonster eieren van eigen kippen, 1 mengmonster compost, 1 monster regenwater

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).



#### Motivatie:

- **Nood aan gegevens in verschillende compartimenten bij dezelfde individuen:**  
Uit de beschikbare gegevens voor deze regio is reeds gebleken dat voeding uit eigen tuin of van lokale teelt een bijdrage kan leveren tot de PFAS-blootstelling. In bloedonderzoek juli-november 2021 werden echter ook PFAS-gehalten boven de toetsingswaarden vastgesteld bij deelnemers die geen lokaal geteelde voeding eten. Door PFAS-gegevens te verzamelen in verschillende compartimenten van de leefomgeving van dezelfde individuen en van deze individuen ook PFAS-gehalten in serum te bepalen, zal getracht worden om met computermodellen te achterhalen in welke mate deze verschillende compartimenten bijdragen tot de blootstelling.
- **Aanvullen van ontbrekende milieucompartimenten:**  
In deze regio werden reeds verschillende studies uitgevoerd die PFAS gemeten hebben in bodem, eieren, groenten, grondwater, drinkwater en recent ook omgevingslucht. PFAS-meetgegevens in huisstof in deze regio zijn momenteel nog niet beschikbaar. Daarom wordt er in deze studie bij meer deelnemers PFAS gemeten in huisstof dan in de andere compartimenten. Metingen in compost en in regenwater kunnen ook bijkomende inzichten verschaffen voor adviezen over tuinieren. Bovendien krijgen we van buurtbewoners ook vragen over veilig gebruik van regenwater voor het begieten van de moestuin. Momenteel zijn er voor regenwater nog geen meetgegevens van PFAS beschikbaar.
- **Inzichten voor andere PFAS-aandachtsgebieden**  
Momenteel worden in Vlaanderen ander gebieden met mogelijke PFAS-vervuiling geïnventariseerd. De gegevens uit deze studie kunnen mogelijk ook inzichten opleveren die adviezen voor andere probleemgebieden kunnen ondersteunen.

### 9.3 INFORMATIE OVER INVLOEDSFACTOREN

Naast PFAS-meetgegevens in de mens en in het leefmilieu en de gegevens over gezondheidsmerkers is er ook bijkomend informatie nodig over factoren die een invloed kunnen hebben op de PFAS-gehalten of op de gezondheidsmerkers. Deze informatie zal verkregen worden vanuit drie verschillende types bronnen:

- **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.
- **Geografische berekeningen:** Op basis van de adreslocaties van de deelnemers zullen de afstand en de oriëntatie tot mogelijke PFAS-bronnen bepaald worden en aan de databank worden toegevoegd.
- **Externe data:** Externe gegevens die nodig zijn voor de interpretatie van de onderzoeksgegevens zullen worden opgevraagd indien deze beschikbaar zijn, zoals luchtkwaliteitsgegevens, klimatologische gegevens, drinkwaterdata, enz.

Een beschrijving van deze gegevens en hoe deze zullen verwerkt worden, zal worden opgenomen in het statistisch analyseplan.

## 10 DOELGROEP

Als studiepopulatie is er gekozen voor **1 leeftijdsgroep van 300 jongeren** met geboortejaren 2007-2008 (14-15 jaar oud), met eventuele uitbreiding naar geboortejaren 2006 en 2009 bij onvoldoende respons.

Alle jongeren van deze leeftijdsgroep die minstens 5 jaar in het studiegebied wonen komen in aanmerking voor deelname, mits toestemming wordt verleend door de jongere en de ouders en ze een Nederlandstalige vragenlijst kunnen invullen. De rekrutering is gericht op een representatieve steekproef voor het studiegebied wat betreft geslacht en socio-economische kenmerken en op een geografische gespreide verdeling binnen het studiegebied. Meer informatie over de selectie van de deelnemers wordt beschreven in de rekruteringsstrategie.

### Motivatie voor de keuze van 1 leeftijdsgroep van 300 deelnemers:

- Het beschikbare budget laat toe om metingen uit te voeren bij 300 deelnemers
- Verschillende merkers van (vroegtijdige) gezondheidseffecten moeten apart bekeken worden voor mannen en vrouwen omdat de biologische processen in het lichaam van mannen en vrouwen anders verlopen (vb. schilkklierhormonen, geslachtshormonen, cardiovasculaire parameters, immuunparameters, e.d.). De groep moet dus voldoende groot zijn.
- Statistische berekeningen (bijlage 3) hebben aangetoond dat minstens 150 deelnemers nodig zijn om blootstelling-effect associaties van een medium sterkte met 80% zekerheid te kunnen waarnemen. Bij minder dan 150 deelnemers kunnen enkel associaties met een grote sterkte worden waargenomen en is er een risico dat kleinere effecten niet worden waargenomen. Gezien verschillende gezondheidseffecten apart moeten bekeken worden voor mannen en vrouwen, moet de totale groep dan uit 300 deelnemers bestaan, waardoor er zal gewerkt worden met één leeftijdsgroep.

### Motivatie voor de keuze van jongeren (geboortejaren 2007-2008)

- Gevoelige doelgroep:  
Jongeren in de puberteit zijn een gevoelige doelgroep voor blootstelling aan PFAS omdat tijdens de puberteit verschillende hormoongerelateerde processen plaats vinden die door PFAS-blootstelling kunnen verstoord worden. Verstoringen in deze fase van ontwikkeling kunnen gezondheidsproblemen op latere leeftijd in de hand werken.
- Goede weergave van de lokale situatie:  
Jongeren van 14-15 jaar zijn meestal nog niet zoveel verhuisd, gaan naar school in de buurt (zeker de periode in de kleuter-basisschool, mogelijk meer spreiding voor secundair onderwijs), hebben hobby's in de buurt (sport, jeugdbeweging) en hebben nog geen beroepsblootstelling. Daarom weerspiegelen zij goed de lokale leefsituatie.
- Bijkomende informatie over PFAS-blootstelling:

In het bloedonderzoek juli-november 2021 hadden inwoners vanaf de leeftijd van 12 jaar de mogelijkheid om PFAS te laten meten in hun bloed. De deelnemersgroep bestond uiteindelijk vooral uit volwassenen. De leeftijdsgroep 12-20 jaar was ondervertegenwoordigd met slechts 34 deelnemers (van de in totaal 796). Het selecteren van jongeren als doelgroep voor deze HBM-studie biedt de mogelijkheid PFAS-blootstellingsgegevens uit te breiden met gegevens voor de niet-volwassen bevolkingsgroep.

- Specifieke gezondheidsgegevens: Jongeren uit geboortejaren 2007-2008 zijn in 2022 14-15 jaar oud en zitten dan in het 3<sup>de</sup> jaar secundair onderwijs, waarin ze een CLB-onderzoek krijgen. Tijdens dat onderzoek wordt informatie verzameld over de puberteitsontwikkeling van de jongeren. Deze CLB-gegevens kunnen opgevraagd worden, mits toestemming van de betrokkenen, en bevatten relevante informatie voor gezondheidseindpunten van PFAS. Door de leeftijdsrange klein te nemen, zitten alle deelnemers ook in eenzelfde ontwikkelingsfase, wat ook voor andere effectmerkers zoals hormonen een voordeel is. Bij onvoldoende respons op de uitnodiging tot deelname kunnen er bijkomende geboortejaren worden aangeschreven. Een nadeel hiervan is dat er dan meer variatie wordt aangebracht in de beschikbaarheid van CLB-gegevens en in de tijd tussen dit onderzoek en het CLB-onderzoek. Jongeren met geboortjaar 2006 hebben een jaar geleden ook een CLB-onderzoek gehad. Door dan ook jongeren van geboortjaar 2009 op te nemen, kan de gemiddelde leeftijd terug op 14-15 jaar gebracht worden. Voor de jongeren geboren in 2009 zijn er dan nog geen puberteitsgegevens van het CLB-onderzoek beschikbaar. Dit kan opgevangen worden door gestandaardiseerde vragen over puberteitsontwikkeling op te nemen in de vragenlijst van deze studie.
- Vergelijkingsmateriaal:
  - o Binnen Vlaanderen: In het Vlaamse HBM-programma zijn PFAS-referentiegegevens beschikbaar voor de algemene Vlaamse bevolking bij jongeren van 14-15 jaar. Deze gegevens dateren van 2017, waardoor er wel een tijdsperiode van 5 jaar is met deze HBM-studie. In statistische modellen kan hiervoor gecorrigeerd worden.
  - o Binnen Europa: In het Europese HBM-project HBM4EU zijn PFAS-gegevens beschikbaar voor jongeren van verschillende Europese lidstaten. Ook in het Europese vervolgproject PARC wordt vooruitgedacht aan jongeren als doelgroep voor metingen in hotspotgebieden.

Bij de vier gemeenten waarvan een deel van hun grondgebied binnen het voorgestelde studiegebied valt, werd het aantal inwoners opgevraagd met geboortejaren 2006, 2007, 2008 en 2009 voor de straten die in het studiegebied liggen of kruisen met het studiegebied (zie Tabel 2). Door de beperkte beschikbare tijd voor dit onderdeel van de studie is het niet mogelijk om voor alle betrokken gemeentes over gegevens te beschikken op huisnummerniveau. Hierdoor werden volledige straten meegerekend, ook al ligt slechts een klein deel van de straat in het studiegebied. De cijfers kunnen bijgevolg een overschatting zijn van het werkelijk aantal inwoners met die geboortejaren in het studiegebied.



Tabel 2: Overzicht van het aantal inwoners met geboortejaren 2006, 2007, 2008 en 2009 op basis van de straatnamen binnen een studiegebied met straal 5 km rond het centrum van de 3M-site, of straten die kruisen met het studiegebied, en de uitbreiding met 1 extra km.

	Zwijndrecht	Antwerpen	Beveren	Kruikeke	som
<b>Zone 5 km</b>					
Geboortejahr <b>2006</b>	235	257	167	0	
Geboortejahr <b>2007</b>	238	246	177	0	
Geboortejahr <b>2008</b>	224	266	151	0	
Geboortejahr <b>2009</b>	257	272	204	0	
<b>14-15 jaar</b>	462	512	328	0	<b>1302</b>
<b>14-15-16 jaar</b>	697	769	495	0	<b>1961</b>
<b>13-14-15-16 jaar</b>	954	1041	699	0	<b>2694</b>
<b>1 extra km</b>					
Geboortejahr <b>2006</b>		962	135	5	
Geboortejahr <b>2007</b>		985	126	7	
Geboortejahr <b>2008</b>		1020	122	3	
Geboortejahr <b>2009</b>		1045	125	7	
<b>14-15 jaar</b>		2005	248	10	<b>2263</b>
<b>14-15-16 jaar</b>		2967	383	15	<b>3365</b>
<b>13-14-15-16 jaar</b>		4012	508	22	<b>4542</b>

**Feedback tijdens consultatie van de lokale adviesgroep (28/02/2022)**

De combinatie van een studiegebied met een straal van 5 km rond 3M en de keuze voor een leeftijdsgroep van 14-15 jarigen, houdt in dat er geen potentiële deelnemers uit Kruikeke in het studiegebied wonen. De gemeente Kruikeke benadrukte op het overleg van 28 februari 2022 dat ook in de wijken van Kruikeke die in de 5 km-zone vallen inwoners bezorgd zijn over mogelijke blootstelling aan PFAS. Het gedeelte van de gemeente Kruikeke dat binnen de 5 km zone valt, komt ook in aanmerking voor het uitgebreide bloedonderzoek dat nog zal worden uitgerold. In dat uitgebreide bloedonderzoek zullen alle inwoners die binnen de afgebakende zone wonen de mogelijkheid krijgen om een bloedstaal te laten onderzoeken op aanwezigheid van PFAS. Dit kan een oplossing bieden voor de ongerustheid die werd opgevangen in de gemeente Kruikeke. De onderzoekers zullen de bezorgdheid vanuit Kruikeke doorgeven aan de verantwoordelijke van het uitgebreide bloedonderzoek.

## 11 BLOOTSTELLINGSMERKERS

De blootstelling aan PFAS zal worden bepaald via chemische meting van verschillende PFAS-componenten in milieucompartimenten (lokale externe blootstelling) en in serum (interne blootstelling). Er zal worden gestreefd om het maximaal aantal PFAS-componenten te meten die technisch haalbaar zijn met de beschikbare methodes. Er zijn momenteel 43 PFAS-componenten in de mogelijke set PFAS opgenomen (Tabel 3). Deze set PFAS is gebaseerd op de gemeten PFAS in neervallend stof dat verzameld werd rond de 3M-site en op een door 3M doorgegeven lijst PFAS die vroeger en/of momenteel door 3M geproduceerd werden. Voor 24 van deze 43 PFAS is er reeds een meetmethode beschikbaar in beide betrokken laboratoria (VITO-GOAL en UAntwerpen-SPHERE), waarvan er voor 10 PFAS een BELAC-accreditatie werd bekomen voor metingen in serum en water bij VITO-GOAL. Voor de overige 19 PFAS-componenten in dit voorstel moet er in één of in beide laboratoria nog een methode op punt worden gesteld. De analysemethodes voor PFAS zijn internationaal nog volop in ontwikkeling. Minimaal zullen de vier EFSA-PFAS (PFOS, PFHxS, PFOA en PFNA) gerapporteerd worden, uitgebreid met andere PFAS-componenten waarvoor de kwaliteit van de data kan worden aangetoond in de betreffende matrix. Er wordt gestreefd om in al de verzamelde matrices dezelfde set PFAS te meten. Er zal voor het kwantificeren van PFAS-componenten een getrapte aanpak gevolgd worden.

- **Stap 1a:** in de bodemstalen en waterstalen van alle **50 deelnemers** zal de volledige set uit tabel 3 worden gemeten en gekwantificeerd (= concentratie bepalen).
- **Stap 1b:** in de huisstofstalen en serumstalen van de **50 deelnemers** die ook stalen hebben van bodem, water, compost, groenten en eieren zal eveneens de volledige set uit tabel 3 worden gemeten en gekwantificeerd (= concentratie bepalen).
- **Stap 2:** in de stalen van **eieren en groenten** van de **50 deelnemers** worden de 4 EFSA-PFAS gekwantificeerd + de PFAS-componenten die op basis van de resultaten uit stap 1a relevant worden geacht (op basis van detectiefrequentie en op basis van kwaliteit van de data) + PFAS componenten die relevant blijken uit reeds beschikbare gegevens in groenten en eieren uit deze regio. Motivatie: De PFAS die in de groenten zitten, worden door de plant opgenomen ofwel uit de bodem, ofwel uit het water. Bij de eieren ligt de focus dan op de PFAS-componenten die de kippen binnen krijgen via contact met de bodem in de kippenren of met bodemorganismen zoals wormen (en minder op de voeding van de kippen).
- **Stap 3:** in de huisstofstalen van de **overige 100 deelnemers** en serumstalen van de **overige 250 deelnemers** worden de 4 EFSA-PFAS gekwantificeerd + de PFAS-componenten die op basis van de resultaten uit stap 1a, stap 1b en stap 2 relevant worden geacht (op basis van detectiefrequentie en op basis van kwaliteit van de data).
- **Stap 4: Compost** is een zeer heterogene matrix en kan in samenstelling en in structuur grote verschillen vertonen tussen de deelnemers. Dit maakt het zeer onzeker om op voorhand te kunnen inschatten in welke mate de compoststalen zullen toelaten om kwaliteitsvolle metingen uit te voeren. Er zal gestreefd worden om minstens de 4 EFSA-componenten (PFOS, PFHxS, PFOA en PFNA) te meten

en te kwantificeren, aangevuld met een zo'n compleet mogelijke set PFAS als de kwaliteit van de stalen toelaat.

Gezien het bloedonderzoek binnen 3 km een belangrijke bijdrage van vertakte vormen van PFOS aantoonde in deze regio, zal zeker voor PFOS zowel de lineaire component als de som van lineaire en vertakte vormen gerapporteerd worden. Indien mogelijk zal ook voor PFOA en PFHxS de som van lineaire en vertakte vormen gerapporteerd worden.

Tabel 3: Overzicht van de PFAS-componenten die bepaald worden in de verschillende matrices, met indicatie van een geaccrediteerde methode in serum en water, een reeds beschikbare meetmethode in beide betrokken labo's en een methode in ontwikkeling in één of in beide labo's.

PFAS	Accreditatie serum en water	Methode beschikbaar beide labo's	Methode in ontwikkeling	CAS nr	Ketenlengte (C)
<b>Perfluor carboxyl zuren (PFCA's)</b>					
perfluoro-n-butaanzuur (PFBA)		✓		375-22-4	3
perfluoro-n-pentaanzuur (PFPeA)	✓	✓		2706-90-3	5
perfluoro-n-hexaanzuur (PFHxA)		✓		307-24-4	6
perfluoro-n-heptaanzuur (PFHpA)	✓	✓		375-85-9	7
perfluoro-n-octaanzuur (PFOA)	✓	✓		335-67-1	8
perfluoro-n-nonaanzuur (PFNA)	✓	✓		375-95-1	9
perfluoro-n-decaanzuur (PFDA)	✓	✓		335-76-2	10
perfluoro-n-undecaanzuur (PFUnA)	✓	✓		2058-94-8	11
perfluoro-n-dodecaanzuur (PFDoA)	✓	✓		307-55-1	12
perfluoro-n-tridecaanzuur (PFTrDA)		✓		72629-94-8	13
perfluoro-n-tetradecaanzuur (PFTeDA)		✓		376-06-7	14
Perfluoro-n-hexadecaanzuur (PFHxDA)			✓	67905-19-5	16
Perfluoro-n-octadecaanzuur (PFODA)			✓	16517-11-6	18
<b>Perfluor sulfonaat zuren (PFSA's)</b>					
perfluoro-n-butaansulfonzuur (PFBS)		✓		375-73-5	3
Perfluor-n-pentaansulfonzuur (PFPeS)		✓		2706-91-4	5
perfluoro-n-hexaansulfonzuur (PFHxS)	✓	✓		355-46-4	6
perfluoro-n-heptaansulfonzuur (PFHpS)	✓	✓		375-92-8	7
perfluoro-n-octaansulfonzuur (PFOS)	✓	✓		1763-23-1	8
perfluoro-n-nonaansulfonzuur (PFNS)			✓	68259-12-1	9
perfluoro-n-decaansulfonzuur (PFDS)		✓		335-77-3	10
perfluoro-n-dodecaansulfonzuur (PFDoS)			✓	79780-39-5	12

Precursoren en vervangproducten					
Perfluorobutylsulfonamide (FBSA)			✓	30334-69-1	4
Perfluorohexylsulfonamide (PFHxSA)			✓	41997-13-1	6
Perfluorooctaansulfonamide (PFOSA)			✓	754-91-6	8
n-methylperfluorooctanesulfonamide (MePFOSA)			✓	31506-32-8	8
n-ethylperfluorooctanesulfonamide (EtPFOSA)			✓	4151-50-2	8
perfluorooctanesulfonamido azijnzuur (PFOSAA)			✓	2806-24-8	8
2-(n-methyl-perfluorooctanesulfonamido) azijnzuur (MePFOSAA)			✓	2355-31-9	8
2-(n-ethyl-perfluorooctanesulfonamido) azijnzuur (EtPFOSAA)			✓	2991-50-6	8
4:2 fluortelomeersulfonzuur (4:2 FTS)		✓		757124-72-4	4
6:2 fluortelomeersulfonzuur (6:2 FTS)		✓		27619-97-2	6
8:2 fluortelomeersulfonzuur (8:2 FTS)		✓		39108-34-4	8
10:2 fluortelomeersulfonzuur (10:2 FTS)			✓	120226-60-0	10
6:2 fluortelomeer fosfaat monoester (6:2 PAP)			✓	57678-01-0	6
8:2 fluortelomeer fosfaat monoester (8:2 PAP)			✓	57678-03-2	8
6:2 fluortelomeer fosfaat diester (6:2 diPAP)			✓	57677-95-9	6
6:2/8:2 fluortelomeer fosfaat diester (6:2/8:2 diPAP)			✓	943913-15-3	
8:2 fluortelomeer fosfaat diester (8:2 diPAP)			✓	678-41-1	8
Hexafluorpropyleenoxidedimeerzuur (HFPO-DA of GenX)		✓		13252-13-6	6
4,8-dioxa-3H-perfluornonaanzuur (ADONA)		✓		919005-14-4	12
perfluor-4-ethylcyclohexaansulfonzuur (PFECHS)			✓	646-83-3	6
kalium 9-chloorhexadecafluor-3-oxanonaan-1-sulfonaat (9Cl-PF3ONS)		✓		73606-19-6	6
kalium 11-chlooreicoscafluor-3-oxaundecaan-1-sulfonaat (11Cl-PF3OUdS)		✓		83329-89-9	11

#### Motivatie:

Deze selectie omvat zowel PFAS met korte ketenlengte als met lange ketenlengte. Fysisch chemische eigenschappen, gedrag en de verspreiding in het milieu van PFAS hangen in hoge mate samen met ketenlengte. Onder vergelijkbare milieumomstandigheden ligt de overgang tussen slecht of goed uitloogbaar, oplosbaar, biobeschikbaar, etc bij de sulfonzuren (zoals PFOS) bij een ketenlengte van 6 koolstofatomen, en bij



de carbonzuren (zoals PFOA) bij een ketenlengte van 8 koolstofatomen. Naast het gedrag en de verspreiding in het milieu bepaalt de ketenlengte vervolgens de routes waarlangs en de mate waarin planten, dieren en de mens PFAS opnemen. Opname verschilt bijgevolg tussen alle PFAS. Kortere PFAS ketens zijn mobieler in water en bodem waardoor deze makkelijker opgenomen worden door planten. Hierdoor is het aandeel van drinkwater en plantopname tot de totale blootstelling hoger voor kortere ketens. De binding op serumeiwitten is hoger voor deze verbindingen, maar hun halfwaardetijd in het serum lager dan bij de langere ketens. Langere ketens accumuleren in hogere mate in dierlijke producten.

## 12 EFFECTMERKERS

De geselecteerde effectmerkers (Tabel 4) zijn gebaseerd op de gezondheidseffecten bij de totale bevolking die door officiële instanties in verband worden gebracht met PFAS-blootstelling op basis van wetenschappelijke literatuur, de bevindingen in enkele Europese PFAS-hotspots en eerder gevonden associaties in Vlaamse HBM-studies.

De beschouwde instanties zijn:

- Het Europees Milieuagentschap (EEA)<sup>4</sup>
- De opinie van de Europese Autoriteit voor Voedselveiligheid (EFSA) van 2020<sup>5</sup>
- De Duitse HBM-commissie<sup>6,7</sup>
- Het Amerikaans Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)<sup>8</sup>

Er zijn niet zo veel Europese PFAS-hotspots waarbij naast blootstellingsmetingen ook effectmetingen werden uitgevoerd. De meeste gegevens zijn terug te vinden voor de Italiaanse Veneto-hotspot. Er zijn ook enkele gegevens beschikbaar voor de Ronneby-hotspot in Zweden.

Tabel 4: Selectie en motivatie opgenomen effectmerkers in de jongerenstudie HBM in de omgeving van 3M.

Voorstel effectmerkers	Motivatie
<b>Effect: verhoogde cholesterol</b> Merkers: totaal cholesterol, HDL, LDL en triglyceriden	Door EEA, EFSA, de Duitse HBM-commissie en ATSDR vermeld als relevant gezondheidseffect bij volwassenen + significante associaties

<sup>4</sup> [Effects of PFAS on human health — European Environment Agency \(europa.eu\)](https://www.euro.who.int/en/health-topics/chemicals/pfas/pfas-on-human-health)

<sup>5</sup> [Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food \(wiley.com\)](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1522-2675.12582)

<sup>6</sup> [Human Biomonitoring \(HBM\)-I values for perfluorooctanoic acid \(PFOA\) and perfluorooctane sulfonic acid \(PFOS\) - Description, derivation and discussion - ScienceDirect](https://doi.org/10.1016/j.sci.2019.05.005)

<sup>7</sup> [Human biomonitoring \(HBM\)-II values for perfluorooctanoic acid \(PFOA\) and perfluorooctane sulfonic acid \(PFOS\) - Description, derivation and discussion - ScienceDirect](https://doi.org/10.1016/j.sci.2019.05.005)

<sup>8</sup> [Potential health effects of PFAS chemicals | ATSDR \(cdc.gov\)](https://www.cdc.gov/atsdr/pfas/pfas-chemicals.html)

	gerapporteerd in Europese hotspots (Veneto <sup>9</sup> , Ronneby)
<b>Effect: verstoorde immuunrespons</b> Merkers: Bloedformule (witte bloedcellen, T-, B- en NK-cellen, T-cellen T4/T8) Immunoglobulines (IgA, IgM, IgE) Cytokines en hsCRP	Door EEA, EFSA, de Duitse HBM-commissie en ATSDR vermeld als relevant gezondheidseffect bij kinderen + door experts van Europese hotspots aangeraden als effectmerkers. De voorgestelde merkers geven een beeld van de immuunrespons op infecties en inflammatie. hsCRP is ook verbonden met de leverwerking en met metabolische inflammatie zoals diabetes.
<b>Effect: verstoorde leverfunctie:</b> Merkers: ALT, AST, GGT, AF	Effecten op de leverwerking bij volwassenen worden door EEA, EFSA en ATSDR vermeld als relevant voor PFAS-blootstelling
<b>Effect: verstoring van de schildklier</b> Merkers: TSH, vrij T4, vrij T3	Effecten op de schildklier worden door EEA en de Duitse HBM-commissie vermeld als relevant voor PFAS-blootstelling. In de Veneto-hotspot werd bij een groep van 21000 deelnemers geen associatie gevonden tussen TSH en PFAS in serum <sup>10</sup> . In de Vlaamse HBM-studies kon momenteel ook geen associatie tussen PFAS en schildklierhormonen worden vastgesteld. Omdat er vanuit de buurtbewoners signalen komen dat er bezorgdheid is over schildklierproblemen, worden de schildklierhormonen toch opgenomen in deze studie.
<b>Effect: verstoring van de puberteitsontwikkeling</b> Merkers: Geslachtshormonen bij jongens: FSH, LH, oestradiol, progesteron, (vrij) testosteron, SHBG Puberteitsontwikkeling: pubisbehaar, genitale ontwikkeling bij jongens, borstontwikkeling bij meisjes, leeftijd eerste maandstonden	Verstoring van de puberteitsontwikkeling wordt door EEA vermeld als een relevant gezondheidseffect voor PFAS-blootstelling. De Duitse HBM-commissie beschouwd verstoring van de geslachtshormonen als een relevant gezondheidseffect voor PFAS-blootstelling. Binnen de Vlaamse HBM-studies werden ook reeds significante associaties waargenomen tussen PFAS-serumgehalten en puberteitsontwikkeling of gehalten aan geslachtshormonen.

<sup>9</sup> [Associations between perfluoroalkyl substances and lipid profile in a highly exposed young adult population in the Veneto Region - ScienceDirect](#)

<sup>10</sup> [Perfluoroalkyl substances and thyroid stimulating hormone levels in a highly exposed population in the Veneto Region - ScienceDirect](#)

<p><b>Effect: verstoorde nierfunctie:</b> Merkers: cystatine C, alfa-1-microglobuline</p>	<p>Nierschade wordt door EEA en ATSDR aangegeven als relevant gezondheidseffect voor PFAS-blootstelling.</p>
<p><b>Effect: kanker (nierkanker, testiskanker, borstkanker)</b> Merkers DNA-schade: 8-oxo-deoxyguanosine</p>	<p>Verschillende kankers aangegeven door meerdere instanties. 8-oxo-deoxyguanosine is een vroege merker voor DNA-herstelprocessen en weerspiegelt de druk op het DNA. Het is evenwel geen kankermerker</p>
<p><b>Effect: obesitas</b> Merkers: BMI, buik- en heupomtrek</p>	<p>EEA vermeldt obesitas als een mogelijk gezondheidseffect van PFAS. Deze biomerkers kunnen eventueel de bevindingen bij de bloedvetten ondersteunen.</p>
<p><b>Effect: verhoogde bloeddruk</b> Merkers: systolische en diastolische bloeddruk</p>	<p>EEA en ATSDR vermelden hoge bloeddruk tijdens de zwangerschap als mogelijk gezondheidseffect van PFAS-blootstelling. In de Veneto-hotspot werd in een groep van 15 500 deelnemers een significante associatie aangetoond tussen PFOA serumgehalten en bloeddrukmetingen bij de algemene bevolking, zowel bij mannen als bij vrouwen<sup>11</sup>. Bij kinderen (2693, 8-11j) en adolescenten (6669, 14-19j) werd dit niet vastgesteld<sup>12</sup>.</p>
<p><b>Effect: diabetes</b> Merkers: geglycosyleerd hemoglobine (HbA1C)</p>	<p>De Duitse HBM-commissie vermeld zwangerschapsdiabetes en type II diabetes als relevante gezondheidseffecten voor PFAS-blootstelling. Deze merker kan ook samen met de vermelde merkers voor obesitas en bloeddruk bijdragen aan een indicatie voor metabool syndroom.</p>
<p><b>Effect: astma en allergie</b> Merkers: voorkomen van astma- en allergieklachten, diagnose door een arts, nemen van specifieke medicatie</p>	<p>Dit werd niet vermeld door de 4 bovengenoemde instanties. In het EFSA rapport van 2020 werd aangegeven dat er zowel meer als minder voorkomen van astma en allergie wordt waargenomen. In de Vlaamse HBM-studies werden significante associaties gevonden tussen PFAS-serumgehalten en het voorkomen van astma of allergie. De resultaten kunnen samen bekeken worden met de resultaten van de immuunrespons .</p>

<sup>11</sup> [Perfluoroalkyl substances and blood pressure in exposed young population in the Veneto Region, Italy | European Journal of Public Health | Oxford Academic \(oup.com\)](#)

<sup>12</sup> [PFAS Concentrations and Cardiometabolic Traits in Highly Exposed Children and Adolescents - PubMed \(nih.gov\)](#)

<p><b>Effect: neurologische aandoeningen</b></p> <p>Merkers: Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD)</p>	<p>Bijkomende suggestie van de lokale adviesgroep. Een recente review<sup>13</sup> met meta-analyse (2021) van de beschikbare wetenschappelijke literatuur besluit dat er een stabiele statistisch significante associatie kan worden aangetoond tussen hogere PFOS-gehalten in serum van kinderen en aanwezigheid van ADHD.</p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**Aanpassing op basis van de consultatie van de lokale adviesgroep (28/02/2022)**

Vanuit de lokale adviesgroep werden suggesties geformuleerd voor bijkomende effectmerkers, zijnde: Attention Deficit / Hyperactivity Disorder (ADHD), autismspectrumstoornis (ASS), anogenitale afstand en de micronucleustest.

Over de gesuggereerde effectmerkers werd bijkomende informatie opgezocht en besproken met de onderzoekers in het consortium en de opdrachtgever.

**ADHD**  
Werd toegevoegd aan de set effectmerkers, motivatie zie Tabel 4.

**ASS**  
De wetenschappelijke literatuur is nog onduidelijk over een mogelijke associatie met PFAS-blootstelling. Indien er associaties worden gevonden, gaat het meestal over prenatale PFAS-blootstelling. Daarom was het minder opportuun dit op te nemen in deze studie.

**Anogenitale afstand**  
Anogenitale afstand is een klinische meting die inderdaad vaak gebruikt wordt in studies over seksuele maturatie. De meting meestal uitgevoerd bij pasgeborenen of eventueel bij zeer jonge kinderen. In wetenschappelijke studies wordt een verminderde anogenitale afstand in verband gebracht met prenatale blootstelling aan hormoonversturende stoffen, dus blootstelling voor de geboorte, tijdens de embryonale ontwikkeling van het ongeboren kind. De blootstelling aan hormoonverstoorders wordt dan gemeten in bloed van de moeder tijdens de zwangerschap of in navelstrengbloed verzameld na de geboorte. De anogenitale afstand is bijgevolg veel minder relevant in een studie waarbij PFAS gemeten worden in serum van 14-15 jarige jongeren en is ook niet gebruikelijk om te bepalen bij deze leeftijdsgroep. In onze studie is reeds een heel panel van eindpunten van seksuele maturatie opgenomen die gelinkt zijn aan hormoonverstoring. Dit zijn parameters die relevant zijn voor de leeftijdsklasse 14-15 jaar én waarmee we ervaring hebben vanuit vorige studies.

---

<sup>13</sup> [The association between maternal perfluoroalkyl substances exposure and early attention deficit hyperactivity disorder in children: a systematic review and meta-analysis - PubMed \(nih.gov\)](#)

### **Micronucleus-test**

Micronuclei komen voort uit chromosoomfragmenten, of soms volledige chromosomen, die bij een celdeling niet in de celkern van de dochtercel worden opgenomen. Het aantal aanwezige micronuclei is dus een maat voor de chromosoombreuken en chromosoomverlies. De micronucleustest kan informatie geven over de cumulatieve DNA-schade en heeft een voorspellende waarde voor kankerrisico.

Het oorspronkelijke meetprotocol is gebaseerd op vers bloed. Omdat het verschillende handelingen vraagt op specifieke tijdstippen gedurende 3 dagen na de staalafname, zou dit een beperking opleggen aan het veldwerk tot enkel bloedafname op maandag- en dinsdagvoormiddag. Dit zorgt voor te weinig flexibiliteit in de organisatie van het veldwerk en een mogelijk bias in de resultaten omdat er enkel stalen worden genomen na een weekend. Via een onderzoeksgroep aan de universiteit Gent is er nu een protocol beschikbaar om deze test uit te voeren op ingevroren bloedstalen. Dit vergroot de mogelijkheden voor de bloedafname tot elke werkdag (vóór 14u-15u).

De komeetttest is gebaseerd op fouten in de DNA-strengen. Deze vorm van DNA-schade bestaat voornamelijk uit tijdelijke, herstelbare fouten. De komeetttest geeft dan ook een beeld van herstelbare DNA-schade in het lichaam. Deze meting kan eveneens uitgevoerd worden op een ingevroren biobankstaal, de bewaarprocedure voor de komeetttest werd eerder toegepast door de onderzoekers en gevalideerd.

De procedures voor het invriezen van een bloedstaal voor de micronucleustest en voor de komeetttest vertonen echter enkele verschillen, verder onderzoek is nodig om te testen of eenzelfde ingevroren staal voor beide analyses kan gebruikt worden. Ook zou de micronucleustest op ingevroren bloed nog voor de start van het veldwerk moeten worden gevalideerd. Gezien de strikte timing van het project is daar onvoldoende ruimte voor. Een vergelijkende studie tussen blootstelling-effect associaties voor 3 merkers voor DNA-schade (8-oxo-deoxyguanosine, komeetttest en micronucleustest) bij 2283 Vlaamse jongeren toonde aan dat de micronucleustest de minst gevoelige test is in deze leeftijdsgroep. Daarom werd beslist om een biobankstaal in deze studie te verwerken volgens de eerder toegepaste bewaarprocedure voor de komeetttest.

Omdat deze studie focust op de effecten op de immuniteit en de ontwikkeling en van hormoonverstoring werd er gekozen om het beschikbare budget vooral in te zetten voor meer relevante merkers voor deze effecten en de merkers voor DNA-schade te beperken tot 8-oxo-deoxyguanosine.

8-oxo-deoxyguanosine is betrokken in het herstel van DNA-schade waarbij oxidaties betrokken zijn. Het is dus een maat voor DNA-herstel en voor oxidatieve stress die de cellen in het lichaam ondervinden. De hoeveelheid 8-oxo-deoxyguanosine in de cellen neemt toe met de leeftijd, maar ook bij bepaalde ziektebeelden zoals allergie, kanker en neurodegeneratieve aandoeningen. Informatie over 8-oxo-deoxyguanosine draagt in deze studie dan ook bij aan de interpretatie van verschillende andere effectmerkers in de selectie.