

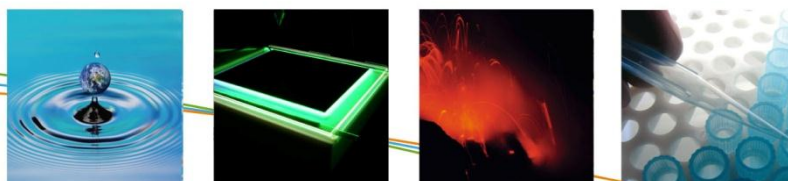
Contractnummer: 081764

# Draaiboek moedermelkcampagne voor de gevalstudie 'Gechloreerde verbindingen in het landelijke aandachtsgebied'

Ann Colles, Els Van de Mieroop, Eva Govarts, Liesbeth Bruckers, Kim Croes, Adrian Covaci, Gudrun Koppen, Vera Nelen, Greet Schoeters

Studie uitgevoerd in opdracht van: het Departement Leefmilieu, Natuur en Energie van de Vlaamse overheid  
2011/Unit/R/36

Januari 2011



**VITO NV**

Boeretang 200 – 2400 MOL – BELGIE  
Tel. + 32 14 33 55 11 – Fax + 32 14 33 55 99  
vito@vito.be – www.vito.be

BTW BE-0244.195.916 RPR (Turnhout)  
Bank 435-4508191-02 KBC (Brussel)  
BE32 4354 5081 9102 (IBAN) KREDBEBB (BIC)



## VERSPREIDINGSLIJST

Caroline Geeraerts, INBO  
Claude Belpaire, INBO  
Christine Vinkx, FOD-DG Gezondheid  
Jasmien Pauwels, Gezondplus  
Vivian Oltheten, Gezondplus  
Maja Mampaey, LNE  
Karen Van Campenhout, LNE  
Griet Van Gestel, OVAM  
Vera Nelen, PIH  
Els van de Mieroop, PIH  
Hana Chovanova, ToVo  
Ilse Loots, UA  
Kristien Desager, UA  
Bert Morrens, UA  
Adrian Covaci, UA  
Liesbeth Bruckers, UHasselt  
Ann Colles, VITO  
Gudrun Koppen, VITO  
Eva Govarts, VITO  
Greet Schoeters, VITO  
Myriam Bossuyt, VMM  
Marjory Desmet, VMM  
Karen Goeyens, VUB  
Kim Croes, VUB

## SAMENVATTING

Het doel van deze studie is het opstellen en uitvoeren van een draaiboek om gehalten aan persistente organische polluenten (POP's) op te volgen in het landelijke aandachtsgebied, bestaande uit landelijke gemeenten in Oost- en West- Vlaanderen en Vlaams-Brabant.

Tijdens de eerste humane biomonitoringcampagne van het Steunpunt Milieu en Gezondheid (2002-2006) werden in navelstrengbloed van pasgeborenen, bloed van 14-15 jarigen en van 50-65 jarigen uit laagbevolkte landelijke gemeenten van Oost- en West-Vlaanderen en Vlaams-Brabant verhoogde gehalten aan PCB's, dioxineachtige stoffen en gechlloreerde pesticiden (een afbraakproduct van DDT en hexachlorobenzeen) gemeten in vergelijking met andere Vlaamse regio's. Gezien de gezondheidskundige ernst van de verhoogde gehalten aan gechlloreerde verbindingen, engageerden de toenmalige bevoegde ministers, Vlaams minister van Openbare Werken, Energie, Leefmilieu en Natuur Hilde Crevits en Vlaams minister van Welzijn, Volksgezondheid en Gezin Veerle Heeren, zich om deze verhogingen prioritair aan te pakken in het faseplan. In deze gefaseerde aanpak vormt verdere opvolging van de gehalten van de vervuilende stoffen een belangrijk onderdeel.

Omdat deze POP's voornamelijk vetoplosbare polluenten zijn, werd gekozen om blootstelling aan deze polluenten te meten in moedermelk. Moedermelk bevat een hoger vetgehalte dan bloed en kan makkelijk door de moeders zelf worden afgenomen. Omdat in België de meerderheid van de moeders bevalt in de materniteit werden de moeders via deze weg gerekruteerd. Er werd vooropgesteld 100 deelnemers in te sluiten in de studie. Het was de bedoeling de resultaten van deze studie te vergelijken met de Belgische resultaten van de vierde WHO-moedermelkcampagne, uitgevoerd in 2006. Om aan de studie te kunnen deelnemen, moesten de moeders voldoen aan de inclusiecriteria die door de WHO gebruikt werden en moesten de moeders 5 jaar in het studiegebied wonen. Omdat de rekrutering van deelnemers zeer moeizaam verliep, werden de inclusiecriteria aangepast (schuingedrukte criteria), wat resulteerde in volgende criteria:

- toestemming geven via ondertekening van een geïnformeerd toestemmings-formulier
- borstvoeding geven
- *meerderjarig zijn en maximum 35 jaar (35 jaar inclusief)*
- geboren in België
- *wonen in één van de vermelde gemeenten*
- normale zwangerschap (> 36 weken)
- HIV negatief
- *bevallen van het 1<sup>ste</sup> of het 2<sup>de</sup> kind*
- niet bevallen van twee- of meerling
- bevallen van een gezonde baby

Na een rekruteringsperiode van 14 maanden werden 84 moeders in de studie opgenomen.

Op de 84 individuele moedermelkstalen werden volgende analyses uitgevoerd:

- Toxicologische Centrum, Universiteit Antwerpen (o.l.v. Adrian Covaci)
  - Merker PCB's
  - Organochloorpesticiden (p,p'-DDE, HCB,  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -HCH, chlordanen, transnonachlor en oxychlordanen)
  - Vlamvertragers (PBDE's)
- Department of Analytical & Environmental Chemistry, Vrije Universiteit Brussel (o.l.v. Willy Baeyens)
  - Dioxineachtige stoffen (CALUX assay)

Op 40 random geselecteerde individuele stalen werden onderstaande metingen uitgevoerd:

- National Institute of Public Health, Oslo, Noorwegen (o.l.v. Georg Becher)
  - Perfluorverbindingen (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS, PFDA, PFUnDA, PFHpS)

Van de 84 individuele stalen werd telkens 10 mL afgenomen om een mengstaal samen te stellen. Elk van bovenstaande laboratoria ontving naast de individuele stalen ook 10 mL van het mengstaal waarop dezelfde metingen werden uitgevoerd als op de individuele stalen. Bijkomend werd 400 mL van het mengstaal geanalyseerd door het WHO-referentielaboratorium in Freiburg, waar dezelfde polluenten werden gemeten als deze tijdens de vierde WHO-moedermelkcampagne.

Uit de resultaten van de individuele stalen blijkt:

Volgende stoffen waren meetbaar in alle stalen:

- Perfluorverbindingen: PFOS, PFOA
- PCB's: PCB118, PCB138, PCB153, PCB170, PCB180
- Pesticiden: HCB, p,p'-DDE, oxychlordan,  $\beta$ -HCH
- Dioxineachtige stoffen: dioxineachtige PCB's, dioxines en furanen

Volgende stoffen waren meetbaar in meer dan 50% van de stalen:

- PCB's: PCB74, PCB99, PCB105, PCB156, PCB183, PCB187
- Pesticiden: p,p'-DDT, transnonachlor
- Vlamvertragers: BDE47, BDE99, BDE100, BDE153, BDE154, BDE209

Volgende stoffen waren meetbaar in minder dan 50% van de stalen:

- Perfluorverbindingen: PFNA, PFHXS
- PCB's: PCB28, PCB101, PCB128
- Pesticiden: p,p'-DDD,  $\gamma$ -HCH
- Vlamvertragers: BDE28, BDE183

Volgende stoffen waren niet meetbaar in de onderzochte stalen:

- Perfluorverbindingen: PFDA, PFUnA, PFHpS
- PCB's: PCB31, PCB52, PCB95, PCB149
- Pesticiden: trans-chlordan, cis-chlordan,  $\alpha$ -HCH

De concentraties gemeten in het mengstaal door het WHO-referentielaboratorium werden vergeleken met de resultaten van het Belgische mengstaal in de WHO-moedermelkcampagne van 2006. Rekeninghoudend met de beschikbare gegevens over de technische en biologische variatie op de meetwaarden worden volgende trends waargenomen voor het landelijke aandachtsgebied (concentraties per gram melkvet):

- 94% hogere waarde voor transnonachlor (geen schatting van de biologische variatie voor de WHO-campagne van 2006)
- 122% hogere waarde voor gebromeerde furan 2,3,4,7,8-PeBDF (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes)
- 153% hogere waarde voor som HBCD (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes). Gezien het grote verschil, kan wel gesteld worden dat dit een betekenisvolle trend is.
- 41% lagere waarde voor BDE15 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes).
- 68% lagere waarde voor BDE85 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes).

Uit de vergelijking van de ratio's transnonachlor/oxychlordan is af te leiden dat het zowel in de huidige als in de Belgische WHO-studiepopulatie om historische blootstelling gaat, maar dat de blootstelling aan transnonachlor in het landelijke aandachtsgebied relatief recenter is dan deze van de Belgische WHO-studiepopulatie.

De statistische analyse voor het identificeren van de invloedsfactoren werd uitgevoerd op de pollutieconcentraties uitgedrukt per volume-eenheid. In de meervoudige regressie werd voor de vetoplosbare pollutanten steeds melkvet als confounder meegenomen.

Enkel voor de gehalten aan PFOS,  $\beta$ -HCH en BDE154 kon een statistisch significante relatie ( $p < 0,05$ ) met de leeftijd van de deelnemers worden aangetoond, waarbij  $\beta$ -HCH en BDE154 concentraties toenemen met stijgende leeftijd. Voor PFOS was de trend minder duidelijk. De PFOS en PFOA-concentraties waren significant hoger in moedermelk van deelnemers met 1 kind dan in moedermelk van deelnemers met 2 kinderen. Deelnemers die 5 tot 20 jaar in het landelijke aandachtsgebied wonen hadden significant lagere PFOS-gehalten in de moedermelk dan deelnemers die meer dan 20 jaar in het aandachtsgebied wonen.

Er werd een significante stijging waargenomen van de PBDE-concentraties in de moedermelk bij een toenemend BMI van de deelnemers. Dit is te verwachten gezien PBDE's vetoplosbaar zijn en accumuleren in vetweefsel.

Een significante seizoensvariatie werd waargenomen voor PCB's en p,p'-DDE. De gehalten aan beide pollutanten waren significant hoger in moedermelkstalen afgenomen in de lente vergeleken met deze afgenomen in de zomer. Deze seizoensvariatie kan een verklaring vinden in het opnemen van meer vetrijk voedsel in de winterperiode waardoor de lichaamsbelasting aan vetoplosbare pollutanten na de winter hoger is.

Deelnemers die elke dag melk of melkproducten consumeren hadden significant hogere gehalten aan DDT en oxychlordan in de moedermelk. De Europese Commissie hanteert in melk en melkproducten een maximum residu gehalte van 0,04 mg/kg voor de som DDT en 0,002 mg/kg voor som chlordan (cis- en trans-chlordan) (Regulation (EC) No 396/2005: [http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm)). Het Federaal Voedselagentschap (FAVV) heeft voor beide pesticiden geen overschrijdingen van deze waarden vastgesteld in melk of melkproducten.

Deelnemers die geen eigen geteelde groenten aten, hadden significant lagere gehalten aan HCB. HCB is een pesticide dat vroeger gebruikt werd om planten, granen en hout te beschermen tegen schimmels. Indien HCB nog aanwezig is in de bodem, kan dit via het eten van zelf geteelde groenten worden opgenomen in het lichaam. In de vragenlijst werd enkel gevraagd hoe frequent de groenten die de deelnemers eten afkomstig waren uit hun eigen tuin. Er is geen informatie beschikbaar over pesticidegebruik, biologisch tuinieren of hoe lang ze reeds producten uit hun eigen tuin consumeren.

Er werd een significante relatie gevonden tussen roken voor de zwangerschap en de CALUX-activiteit van dioxineachtige PCB's en dioxines en furanen in de moedermelk, waarbij de waarden voor dioxineachtige activiteit hoger waren bij ex-rokers dan bij deelnemers die nooit rookten of aangaven een roker te zijn. Deelnemers die waren afgevallen na de zwangerschap hadden ook significant hogere waarden voor dioxineachtige activiteit dan deelnemers die waren bijgekomen.

Voor het **verder opvolgen van het landelijke aandachtsgebied** door humane biomonitoring kan worden aanbevolen niet te sterk te beperken in aantal deelnemers. Omdat deze regio laagbevolkt is, is het aangewezen een breed beschikbare matrix te kiezen. Navelstrengbloed lijkt hier dan

praktisch gezien een betere keuze dan moedermelk. Omdat dit een grotere belasting betekent voor de kraaminstellingen, wordt de vereiste behandeling van het navelstrengbloed best beperkt gehouden. De keuze van de matrix is ook afhankelijk van de te onderzoeken polluenten. Uit de resultaten van deze studie bleken vooral het pesticide transnonachlor en vlamvertrager HBCD interessant voor verdere opvolging. HBCD is echter moeilijk meetbaar in bloed en werd in deze studie enkel in het moedermelkmengstaal gemeten. Omdat HBCD een veelgebruikte vlamvertrager is in consumentenproducten, lijkt opvolging voor deze polluent eerder aangewezen via individuele stalen in een Vlaamse moedermelkcampagne.

Vele polluenten kennen een bepaalde tijdstrend. Om resultaten van specifieke studies te kunnen vergelijken met **relevante referentiewaarden** is het aangewezen om de 4 à 5 jaar Vlaamse referentiecampagnes uit te voeren.

Voor het uitschrijven van nieuwe humane biomonitoringstudies kunnen ook een aantal **algemene aanbevelingen** geformuleerd worden. Indien mogelijk is het aangewezen het studiegebied voldoende groot te nemen en bijvoorkeur dichtbevolkt. Voor studies bij pasgeborenen verloopt rekrutering via de kraaminstellingen vlot, maar overbevraging en overbelasting van de kraaminstellingen moet wel vermeden worden. Opnemen van te veel inclusiecriteria voor deelname aan de studie kan de rekrutering bemoeilijken. Anderzijds zorgen weloverwogen inclusiecriteria voor een meer homogene studiestudiepopulatie. De matrix waarin de metingen zullen worden uitgevoerd, wordt grotendeels bepaald door de aard van de te meten biomerkers. Moedermelk is een goede matrix voor vetoplosbare stoffen, is makkelijk af te nemen zonder medische apparatuur en in grote volumes beschikbaar. Maar moeders die geen borstvoeding geven, worden echter uitgesloten. In navelstrengbloed kunnen ook niet-vetoplosbare stoffen gemeten worden, maar deze matrix bevat minder vetten, is niet geschikt voor stoffen die niet door de placenta kunnen en de behandeling moet gebeuren in de kraaminstelling. Het voordeel bij het gebruik van navelstrengbloed is dat ook moeders die geen borstvoeding geven kunnen deelnemen. Het verzamelen van individuele stalen geniet de voorkeur boven mengstalen omdat dan uitgebreide informatie beschikbaar is over de pollutiegehalten, de grootte van de variatie en de mogelijke invloedsfactoren. Bij mengstalen is de analysekost welliswaar kleiner, maar de inspanningen voor het veldwerk zijn even groot als voor individuele stalen. Wanneer budget een beperkende factor is, kan gekozen worden voor een stapsgewijze aanpak waarbij polluenten eerst gemeten worden in een mengstaal, waarna polluenten die in belangrijke mate aanwezig zijn kunnen gemeten worden in individuele stalen.

## SUMMARY

This study aimed to establish and carry out procedures to follow up persistent organic pollutants (POPs) levels in a rural area, consisting of low populated communities in the provinces East and West Flanders and Flemish Brabant.

In the first Flemish Environment and Health survey run by the Flemish Centre of Expertise on Environment and Health (FLEHS 2002-2006) increased concentrations of PCBs, dioxin-like substances and chlorinated pesticides (a metabolite of DDT and hexachlorobenzene) were observed in cord blood of newborns, blood of youngsters and adults living in low populated rural communities of East and West Flanders and Flemish Brabant compared to other Flemish regions. The health concern associated with chlorinated compounds, caused the ruling Flemish Minister of Public Works, Energy, Environment and Nature, Hilde Crevits and Minister of Welfare, Public Health and Family, Veerle Heeren, to give it first priority in the Flemish action plan. This action plan contains successive phases and follow-up pollutant levels is an important part of this phased approach.

Because POPs are mainly lipophilic, human milk was selected as matrix to assess exposure to these compounds. Human milk contains more fat than blood and can easily be obtained by the mothers themselves. Mothers were recruited in maternities because it is the most popular place to give birth in Belgium. The study aimed to include 100 participants. The POP levels were meant to be compared with the Belgian results of the forth WHO human milk survey from 2006. Therefore, to be selected, mothers had to meet the WHO inclusion criteria and live in the study area for the last 5 years. Because the recruiting of participants was very slow and difficult, the inclusion criteria were adjusted (in italic), resulting in following criteria:

- Sign an informed consent
- Breastfeeding the baby
- *Age between 18 and 35 years (35 years included)*
- Born in Belgium
- *Reside in one of the selected communities*
- Having a normal pregnancy (> 36 weeks)
- Being HIV negative
- *Give birth to the first or second child*
- Not giving birth to twins
- Giving birth to a healthy baby

After recruiting 14 months, 84 mothers were enrolled in the study.

Following analysis were performed on 84 individual samples:

- Toxicological Centre, University of Antwerp (supervised by Adrian Covaci)
  - Marker PCBs
  - Organochlor pesticides (p,p'-DDE, HCB,  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -HCH, chlordanes, transnonachlor and oxychlordane)
  - Flame retardants (PBDEs)
- Department of Analytical & Environmental Chemistry, Free University of Brussels (supervised by Willy Baeyens)
  - Dioxine-like substances (CALUX assay)

Following analysis were performed on 40 randomly selected individual samples:

- National institute of Public Health, Oslo, Norway (supervised by Georg Becher)
  - Perfluorinated compounds (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS, PFDA, PFUnDA, PFHpS)

From each of the 84 individual samples, 10 mL was taken to compose a pooled sample. Each laboratory received 10 mL of this pooled sample, which was subjected to the same analysis as the individual samples. Another 400 mL of the pooled sample was analysed by the WHO reference laboratory in Freiburg for the same pollutants as measured in the fourth WHO human milk survey.

The results of the individual samples showed that:

Following substances were quantifiable in all samples:

- Perfluorinated compounds: PFOS, PFOA
- PCBs: PCB118, PCB138, PCB153, PCB170, PCB180
- Pesticides: HCB, p,p'-DDE, oxychlordane,  $\beta$ -HCH
- Dioxine-like compounds: dioxine-like PCBs, dioxins and furans

Following substances were quantifiable in more than 50% of the samples:

- PCBs: PCB74, PCB99, PCB105, PCB156, PCB183, PCB187
- Pesticides: p,p'-DDT, transnonachlor
- Flame retardants: BDE47, BDE99, BDE100, BDE153, BDE154, BDE209

Following substances were quantifiable in less than 50% of the samples:

- Perfluorinated compounds: PFNA, PFHXS
- PCBs: PCB28, PCB101, PCB128
- Pesticides: p,p'-DDD,  $\gamma$ -HCH
- Flame retardants: BDE28, BDE183

Following substances were below limit of quantification in all samples:

- Perfluorinated compounds: PFDA, PFUnA, PFHpS
- PCBs: PCB31, PCB52, PCB95, PCB149
- Pesticides: trans-chlordane, cis-chlordane,  $\alpha$ -HCH

The concentrations measured in the pooled sample by the WHO reference laboratory were compared with the results of the Belgian pooled sample of the fourth WHO human milk survey in 2006. Taking into account available data for technical and biological variance on the measurements, following trends were observed for the rural study area (concentrations per g lipid weight):

- 94% higher value for transnonachlor (no available estimation of biological variance for the 2006 WHO results).
- 122% higher value for brominated furan 2,3,4,7,8-PeBDF (no available estimation of biological variance for both surveys).
- 153% higher value for sum HBCD (no available estimation of biological variance for both surveys). A meaningful trend can be assumed due to the large difference in concentration.
- 41% lower value for BDE15 (no estimation of biological variance for both surveys).
- 68% lower value for BDE85 (no available estimation of biological variance for both surveys).

Comparison of the transnonachlor/oxychlordane ratios for both surveys shows the exposure is historical in both study groups, but suggests the transnonachlor exposure in the rural study area is relatively more recent than in the Belgian WHO study population.

Statistical analysis to identify covariates was performed on pollutant concentrations per mL milk. Milk lipid percentage was included as confounding factor for lipophilic compounds in all multiple regressions.

A statistical significant relation ( $p < 0,05$ ) with the participants age was only obtained for levels of PFOS,  $\beta$ -HCH and BDE154. Concentrations of  $\beta$ -HCH and BDE increased with increasing age of the participants. This trend was less clear for PFOS. PFOS en PFOA concentrations were significantly higher in milk of primiparous participants compared to mothers who gave birth to their second child. Significant lower values for PFOS were observed in participants living 5 to 20 years in the study area compared to mothers residing there for more than 20 years.

A significant increase of PBDE milk levels was observed with increasing BMI of the participants.

PCB and p,p'-DDE concentrations in the milk samples showed a seasonal variation, with significant higher levels in milk samples collected in spring compared to those collected in summer.

Participants daily consuming milk or dairy products had significant higher levels of DDT and oxychlordane in their breastmilk samples. For milk and dairy products, the European Commission defined a maximum residue level (MRL) of 0,04 mg/kg for sum DDT and 0,002 mg/kg for sum chlordane (cis- and trans-chlordane) (Regulation (EC) No 396/2005: [http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm)). According to the Federal Food Agency (FAVV) both MRLs weren't exceeded in milk or dairy products in Flanders.

Samples of participants not eating vegetables from their own garden, contained significant lower HCB-concentrations.

A significant relation was observed between smoking before the pregnancy and the measured activity of dioxine-like PCBs, dioxins and furans analysed using the CALUX-assay. Levels of dioxine-like activity were higher in milk samples from ex-smokers compared to non-smokers and current smokers. Participants who lost weight after the pregnancy had significant higher values of dioxine-like activity compared to participants who gained weight.

For future human biomonitoring in this rural area it is recommended not to put too much limitation on the number of participants. Because the region is low populated, it is preferable to measure POPs in a more commonly available matrix. (Cord) blood seems therefore a more suitable matrix than human milk. Which matrix to choose is also depending on the pollutants of interest. From the present results, the pesticide transnonachlor and the flame retardant HBCD seem interesting pollutants for future research in this area. HBCD is preferable measured in mothermilk since it is hardly detectable in blood samples. HBCD was only measured in milk pools in the current study, so that we do not have much information on geographical gradients in the area. Since it is a commonly used flame retardant in consumer products, measurements in individual samples in a larger Flemish human milk survey might be interesting.

To be able to compare results of specific studies with relevant reference values, repeating Flemish reference surveys every 4 or 5 years is recommended.

Following general recommendations could be noted for future biomonitoring surveys. If possible, the study area should be sufficiently large and preferable dense populated. When studying newborns, recruiting through maternities works well, but overloading of maternities should be avoided. Enrolling of participants can be complicated by setting too many inclusion criteria. Well defined inclusion criteria are important to keep the study population homogenous. The matrix

used to perform the analysis of biomarkers is mainly dependent on the nature of the biomarkers to measure. Human milk is a suitable matrix for lipophilic compounds, is easily obtained without medical equipment and available in large quantities. However, mothers who don't breastfeed their children will be excluded. Cord blood can have the advantage that it can also be used to measure water soluble substances, but has the disadvantage that it contains less fat (and thus lower concentrations of fat-soluble compounds) and it is not suitable for compounds that cannot pass the placenta. Furthermore, more handling has to be done by the maternity personnel for collection of the sample. Measurements in individual samples is preferred above pooled samples because more elaborate information is available about pollutant levels, variance and possible covariates. The costs for the analysis is smaller when pooled samples are used, but the amount of fieldwork is as elaborate as for individual samples. When the budget is limiting, a trapped system can be chosen, in which compounds are first measured in pooled samples and further on individual, if they seem to be relatively highly present in that matrix.

## INHOUD

Verspreidingslijst	I
Samenvatting	II
Summary	VI
Inhoud	X
Lijst van tabellen	XIII
Lijst van figuren	XVI
Lijst van afkortingen	XVII
<b>HOOFDSTUK 1. Situering</b>	<b>1</b>
<b>HOOFDSTUK 2. Rekrutering en staalname</b>	<b>3</b>
2.1. <i>Rekrutering</i>	3
2.1.1. Selectie materniteiten	3
2.1.2. Selectie deelnemers	4
2.1.3. Rekrutering deelnemers	5
2.2. <i>Staalname</i>	6
2.2.1. Evolutie van de staalname	6
2.2.2. Materiaal en werkwijze	7
2.2.3. Registratie en bewaring	8
2.2.4. Vragenlijsten	8
<b>HOOFDSTUK 3. Analysemethoden</b>	<b>10</b>
3.1. <i>Chemische analyse moedermelkstalen</i>	10
3.1.1. Beschrijving van de pollutanten	11
3.1.2. Individuele stalen	15
3.1.3. Mengstaal	16
3.2. <i>Statistische analyse</i>	16
3.2.1. Individuele stalen	16
3.2.2. Mengstalen	16
<b>HOOFDSTUK 4. Resultaten</b>	<b>18</b>
4.1. <i>Beschrijving studiepopulatie</i>	18
4.2. <i>Blootstellingsgegevens</i>	21
4.2.1. Individuele stalen	22
4.2.2. Mengstalen	29
4.3. <i>Vergelijking met WHO-moedermelkcampagne 2006</i>	31
4.4. <i>Herevaluatie TEF-waarden door WHO in 2005</i>	37
4.5. <i>Vergelijking met Referentiebiomonitoring FLEHS II van het Steunpunt M&amp;G</i>	40

4.6.	<i>Vergelijking met buitenlandse waarden</i>	41
4.6.1.	Klassieke metingen in WHO moedermelkcampagnes _____	41
4.6.2.	Gebromeerde vlamvertragers _____	42
4.6.3.	Gechloreerde pesticiden _____	44
4.6.4.	Perfluorverbindingen _____	46
4.6.5.	PCB's _____	46
4.6.6.	PCDD/F's en dioxineachtige PCB's _____	47
4.7.	<i>Welke factoren beïnvloeden de pollutieconcentraties?</i>	48
4.7.1.	Invloed van leeftijd op de pollutiegehaltenes _____	48
4.7.2.	Invloed van pariteit op de pollutiegehaltenes _____	48
4.7.3.	Invloed van wonen in het landelijke aandachtsgebied op de pollutiegehaltenes _____	49
4.7.4.	Meervoudige regressies _____	49
<b>HOOFDSTUK 5.</b>	<b>Voorstel tot draaiboek _____</b>	<b>52</b>
5.1.	<i>Knelpunten</i>	52
5.1.1.	Inclusiecriteria als remmende factor op de rekrutering _____	52
5.1.2.	Aard van het studiegebied en rekrutering _____	53
5.1.3.	De gekozen matrix _____	53
5.1.4.	Het aantal deelnemers en statistische verwerking. _____	54
5.2.	<i>Draaiboek</i>	54
5.2.1.	Rekrutering _____	54
5.2.2.	Keuze van de matrix _____	55
5.2.3.	Keuze van de populatiegrootte _____	57
5.2.4.	Tijdsperiode voor het opstellen van referentiewaarden _____	57
5.2.5.	Toegevoegde waarde individuele stalen versus mengstalen _____	57
<b>HOOFDSTUK 6.</b>	<b>Besluit _____</b>	<b>59</b>
6.1.	<i>Besluit meetresultaten</i>	59
6.1.1.	Vergelijking met metingen Belgisch mengstaal van vierde WHO-moedermelkcampagne in 2006. _____	59
6.1.2.	Vergelijking met buitenlandse waarden _____	59
6.2.	<i>Aanbevelingen voor het opvolgen van het landelijke aandachtsgebied</i>	60
6.3.	<i>Aanbevelingen voor het opzetten van nieuwe biomonitoringstudies</i>	61
<b>Literatuurlijst _____</b>		<b>62</b>
<b>Begrippenlijst _____</b>		<b>64</b>
<b>Bijlage A: Nota omtrent opties voor uitbreiding rekruteringscriteria _____</b>		<b>65</b>
<b>Bijlage B: Informatiebrochure en toestemmingsformulier _____</b>		<b>70</b>
<b>Bijlage C: Vragenlijst _____</b>		<b>71</b>
<b>Bijlage D: Analyseprocedure persistente pollutanten _____</b>		<b>72</b>
<b>Bijlage E: Analyseprocedure CALUX _____</b>		<b>74</b>
<b>Bijlage F: Invloedsvariabelen _____</b>		<b>76</b>

<b>Bijlage G: Meervoudige regressies</b>	<b>77</b>
------------------------------------------	-----------

## LIJST VAN TABELLEN

tabel 1: Deelnemende kraamklinieken met opstartdatum _____	5
tabel 2: Aantal deelnemers _____	6
tabel 3: Overzicht van de polluenten gemeten in de individuele stalen en in het mengstaal. ____	11
tabel 4: Karakteristieken van de studiebevolking (Indien de som niet gelijk is aan 84, zijn er deelnemers die de vraag niet hebben ingevuld. Het percentage is berekend op het aantal beschikbare antwoorden.) _____	19
tabel 5: overzicht gemeten polluenten in de individuele moedermelkstalen uitgedrukt per mL __	24
tabel 6: overzicht gemeten polluenten in de individuele moedermelkstalen uitgedrukt in ng per gram vet _____	26
tabel 7: polluenten gemeten in het mengstaal door de Vlaamse laboratoria en het WHO-referentielaboratorium. _____	29
tabel 8: Vergelijking van pollutentconcentraties in het mengstaal van het landelijke aandachtsgebied in 2009-2010 met het mengstaal van de Belgische studiebevolking uit de WHO-moedermelkcampagne van 2010. Beide stalen werden geanalyseerd door het WHO-referentielaboratorium in Freiburg. De concentraties zijn uitgedrukt in ng/g vet, tenzij anders vermeld. _____	32
tabel 9: Ratio's pesticide/afbraakproduct voor DDT en transnonachlor voor de huidige studiebevolking en voor de Belgische studiebevolking van de WHO-moedermelkcampagne in 2006. _____	37
tabel 10: Analyseresultaten van de dioxineachtige PCB's, de dioxine- en furanencongeneren met omrekening naar pg TEQ/g vet, gebruikmakend van de TEF-waarden volgens WHO 1998 en WHO 2005. _____	39
tabel 11: Referentiewaarden voor PCB153 en p,p'-DDE in navelstrengbloed van het Steunpunt M&G en daaruit theoretisch geschatte overeenkomstige moedermelkgehalten, vergeleken met gemeten concentraties van deze polluenten in moedermelk van de huidige studie en van de WHO-campagne van 2006. _____	41
tabel 12: Overzicht van de waarden van POPs in moedermelk gemeten door de WHO in de 3 <sup>de</sup> (2000-2003) en 4 <sup>de</sup> moedermelkcampagne(2005-2007). De POP-gehalten voor de regio's werden berekend uit de mediaanwaarden van de landen indien 2 of meer mengstalen beschikbaar waren. (tabel overgenomen uit: Malisch et al., 2008) _____	42
tabel 13: Gemeten concentraties HBCD (ng/g vet) in moedermelk _____	43
tabel 14: Gemeten concentraties PBDE's in moedermelk. De som van de 7 meest voorkomende PBDE's (28, 47, 99, 100, 153, 154 en 183) wordt weergegeven in ng/g vet). _____	43
tabel 15: Gemeten concentraties decaBDE (209) in moedermelk (ng/g vet) _____	44
tabel 16: Gemeten HCH-concentraties (ng/g vet) in moedermelk _____	44
tabel 17: Gemeten concentraties DDT, DDE en DDD (ng/g vet) in moedermelk _____	44
tabel 18: Gemeten concentraties HCB (ng/g vet) in moedermelk _____	45
tabel 19: Gemeten concentraties merker-PCB's (som 6 merker PCB's: 28, 52, 101, 138, 153 en 180) in moedermelk (ng/g vet) _____	47
tabel 20: Gemeten concentraties PCDD/F's en dioxineachtige PCB's (DL-PCB's) in moedermelk, uitgedrukt in pg WHO-TEQ/g vet. _____	47
tabel 21: p-waarden voor de univariate regressies van het aantal jaren wonen in het landelijke aandachtsgebied met de verschillende polluenten. OXC = oxychlordan, TN = transnonachlor, DL PCB = dioxineachtige PCB's. Alle polluenten werden getest uitgedrukt per volume-eenheid, behalve de polluenten met _V die zijn uitgedrukt per g vet. _____	49
tabel 22: meetbaarheid van de polluenten in moedermelk van de huidige studie en in navelstrengbloed van de tweede humane biomonitoringscampagne van het Steunpunt Milieu en Gezondheid. _____	56

---

Tabel 23: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor PFOS en PFOA in moedermelk (In-getransformeerd) in $\mu\text{g/L}$ .	77
Tabel 24: Detailparameters voor de significante parameters voor PFOS in moedermelk (In-getransformeerd) in $\mu\text{g/L}$ .	77
Tabel 25: Detailparameters voor de significante parameters voor PFOA in moedermelk (In-getransformeerd) in $\mu\text{g/L}$ .	77
Tabel 26: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor PCB's in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	78
Tabel 27: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB74 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	79
Tabel 28: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB99 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	79
Tabel 29: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB105 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	79
Tabel 30: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB118 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	79
Tabel 31: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB138 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	80
Tabel 32: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB153 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	80
Tabel 33: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB156 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	80
Tabel 34: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB170 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	81
Tabel 35: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB180 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	81
Tabel 36: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB183 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	81
Tabel 37: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB187 in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	82
Tabel 38: Detailparameters voor de significante parameters voor som 3 merker PCB's in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	82
Tabel 39: Detailparameters voor de significante parameters voor som 6 merker PCB's in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	82
Tabel 40: Detailparameters voor de significante parameters voor som 7 merker PCB's in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	83
Tabel 41: Meervoudig regressiemodel met p-waarden voor organochloorpesticiden (HCB, p,p'-DDE, p,p'-DDT, oxychlordan, transnonachlor en $\beta$ -HCH) in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	83
Tabel 42: Detailparameters voor de significante parameters voor HCB in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	84
Tabel 43: Detailparameters voor de significante parameters voor p,p'-DDE in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	84
Tabel 44: Detailparameters voor de significante parameters voor p,p'-DDT in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/co}$ .	84
Tabel 45: Detailparameters voor de significante parameters voor oxychlordan in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	85
Tabel 46: Detailparameters voor de significante parameters voor transnonachlor in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	85
Tabel 47: Detailparameters voor de significante parameters voor $\beta$ -HCH in moedermelk (In-getransformeerd) in $\text{pg/mL}$ .	85

---

Tabel 48: Meervoudig regressiemodel met p-waarden voor PBDE's in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL. _____	86
Tabel 49: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE47 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL. _____	86
Tabel 50: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE99 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL. _____	86
Tabel 51: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE100 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/l. _____	87
Tabel 52: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE154 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL. _____	87
Tabel 53: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE153 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/ $\mu$ L. _____	87
Tabel 54: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE209 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL. _____	87
Tabel 55: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor dioxineachtige PCB's (Calux-waarden) en PCDD/F's (Calux-waarden) in moedermelk (In-getransformeerd) in pg BEQ/g vet. _____	88
Tabel 56: Detailparameters voor de significante parameters voor dioxineachtige PCB's (Calux-waarden) in moedermelk (In-getransformeerd) in pg BEQ/g vet. _____	88
Tabel 57: Detailparameters voor de significante parameters voor PCDD/F's (Calux-waarden) in moedermelk (In-getransformeerd) in pg BEQ/g vet. _____	88

## LIJST VAN FIGUREN

figuur 1: Situering van de deelnemende kraamklinieken ten opzichte van het landelijk aandachtsgebied. _____	4
figuur 2: Maandelijks evolutie van het aantal deelnemers en het aantal opgestarte materniteiten	7
figuur 3: Gehalten aan dioxinen+furanen in Belgische moedermelk geanalyseerd in de vier openvolgende WHO-campagnes (uit: Colles et al., 2008). _____	40

---

**LIJST VAN AFKORTINGEN**

ADI	Acceptable daily intake
AHTN	6-acethyl-1,1,2,4,4,7-hexamethyltetraline of tonalide
ArfD	Acute referentie dosis voor occasionele korte termijnblootstelling (1 dag)
BEC	Biochemische equivalenten
BMI	Body Mass Index
DDD	dichlorodifenyldichloroethaan
DDE	Dichlorodifenyldichloroethyleen
DDT	dichlorodifenyltrichloroethaan
EPA	United States Environmental Protection Agency
HBCD	hexabromocyclododecaan
HCB	hexachlorobenzeen
HCH	hexachlorohexaan
HHCB	Hexahydro-hexamethyl-cyclopenta(y)-2-benzopyran of galaxolide
LOD	Level of detection
LOQ	Level of quantification
NOAEL	No observed adverse effect level
OxC	oxychlordan
PBDE's	Polygebromeerde difenylethers
PBrDD	Polygebromeerde dibenzodioxines
PBrDF	Polygebromeerde dibenzofuranen
PCB's	Polygechloreerde bifenylen
PCDD	Polygechloreerde dibenzodioxines
PCDF	Polygechloreerde dibenzofuranen
PFC	perfluorcomponenten
PFOS	Perfluoroctane sulfonic acid
PFOA	Perfluoroctanoic acid
PFNA	Perfluornonanoic acid
PFHxS	Perfluor hexane sulfonic acid
PFDA	Perfluordecanoic acid
PFUnDA	Perfluorundecanoic acid
PFHpS	Perfluorheptane sulfonic acid
POP's	Persistente Organische Polluenten
PTDI	Provisional tolerable daily intake
PTMI	Provisional tolerable monthly intake
TBBPA	Tetrabromobisfenol A
TDI	Tolerable daily intake
TEF	Toxisch equivalentie factor
TEQ	Toxisch equivalentie quotiënt
TN	transnonachlor
WHO	World Health Organisation



## HOOFDSTUK 1. SITUERING

---

In de periode 2002-2006 werden door het eerste Steunpunt Milieu en Gezondheid in opdracht van de Vlaamse overheid metingen uitgevoerd van vervuilende stoffen in het bloed van inwoners uit 8 verschillende aandachtsgebieden in Vlaanderen. In navelstrengbloed van pasgeborenen, bloed van 14-15 jarigen en van 50-65 jarigen uit laagbevolkte landelijke gemeenten van Oost- en West-Vlaanderen en Vlaams-Brabant werden relatief hoge gehalten aan PCB's, dioxineachtige stoffen en gechlloreerde pesticiden (een afbraakproduct van DDT en hexachlorobenzeen) gemeten in vergelijking met andere Vlaamse regio's.

Gezien de gezondheidskundige ernst van de verhoogde gehalten aan gechlloreerde verbindingen, engageerden de bevoegde ministers, Vlaams minister van Openbare Werken, Energie, Leefmilieu en Natuur Hilde Crevits en Vlaams minister van Welzijn, Volksgezondheid en Gezin Veerle Heeren, zich om deze verhogingen prioritair aan te pakken in het faseplan. In deze gefaseerde aanpak vormt verdere opvolging van de gehalten van de vervuilende stoffen een belangrijk onderdeel.

In dit kader worden, in opdracht van het Departement Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE), de gehalten van vervuilende stoffen in moedermelk van moeders uit dit gebied opgevolgd. De individuele gehalten aan vervuilende stoffen in moedermelk zijn dus niet bedoeld om persoonlijke gezondheidsgevaars van de moeders en hun kind in te schatten. De gehalten in de moedermelk zijn m.a.w. niet indicatief voor de kwaliteit van de moedermelk. Deze studie meet of bevraagt geen gezondheidseffecten, maar geeft enkel informatie over concentraties aan vervuilende stoffen in moedermelk, welke een maat zijn voor de blootstelling aan en de verspreiding van deze stoffen in het leefmilieu.

De meetwaarden zullen o.a. vergeleken worden met Belgische en Vlaamse resultaten van de vierde moedermelkcampagne (2006), gecoördineerd door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO). In deze WHO-moedermelkcampagne werden gehalten aan Persistente Organische Stoffen (POP's) bepaald in 200 Belgische moedermelkstalen en één mengstaal (Colles *et al.*, 2008). Voor België is het tot dusver de enige studie waarin een erg breed scala aan POP's werden geanalyseerd in moedermelk.

De doelstelling van dit onderzoek was een draaiboek uit te werken om gehalten aan persistente organische pollutanten (POPs) op te volgen in landelijke gemeenten in Oost- en West-Vlaanderen en Vlaams-Brabant. Bedoeling was een overzicht te krijgen van de gehalten aan POP's in de moedermelk, om:

- een 'nulwaarde' of 'nulmeting' te bepalen, om tijdstrends in concentratie na te kunnen gaan in deze regio.
- een vergelijking te kunnen maken met eerdere WGO-moedermelkcampagnes (1987-1988, 1992-1993, 2000-2003, 2005-2006) en met andere Belgische en/of Vlaamse studies



---

## HOOFDSTUK 2. REKRUTERING EN STAALNAME

---

Het onderzoeksproject werd voorgelegd aan de Commissie Medische Ethiek van de Universiteit Antwerpen en door deze commissie goedgekeurd op 4 mei 2009. Het dossier met code UA A09 18 bestond uit (i) het aanvraagformulier, (ii) het draaiboek, (iii) de vragenlijst voor de deelnemers, (iv) de informatiebrochure voor de deelnemers, (v) het toestemmingsformulier, (vi) de brief aan de deelnemers, (vii) het invulblad afkolven en (viii) het verzekeringsattest. Op 29 juni 2009 werd een uitbreiding van het dossier met meting van perfluorverbindingen en metingen in navelstrengbloed aangevraagd. Deze uitbreiding werd goedgekeurd door de ethische commissie op 10 juli 2009.

### 2.1. REKRUTERING

In België bevalt een ruime meerderheid van de vrouwen in een ziekenhuis, daarom kozen we ervoor via het ziekenhuis pasbevallen moeders te rekruteren. We namen eveneens contact op met zelfstandige vroedvrouwen en centra voor thuisbevallingen binnen het gebied. In de raadplegingen van Kind en Gezin binnen de betrokken gemeenten hingen affiches en werden flyers uitgedeeld aan pas bevallen moeders. Zij konden zichzelf kandidaat stellen.

#### 2.1.1. SELECTIE MATERNITEITEN

De materniteiten werden geselecteerd op basis van hun ligging (in het landelijk aandachtsgebied) en op basis van gegevens over het aantal bevallingen in de aandachtsgebieden uit het eerste generatie Steunpunt Milieu en Gezondheid. Deze databank leverde informatie op over waar de moeders die binnen het landelijke aandachtsgebied wonen bevallen. De samenwerking met de ziekenhuizen verliep zeer vlot. Van de 11 gecontacteerde ziekenhuizen waren er 9 bereid om mee te werken aan de studie. In totaal werd gerekruteerd in deze 9 ziekenhuizen in de periode van begin mei 2009 tot eind juni 2010.

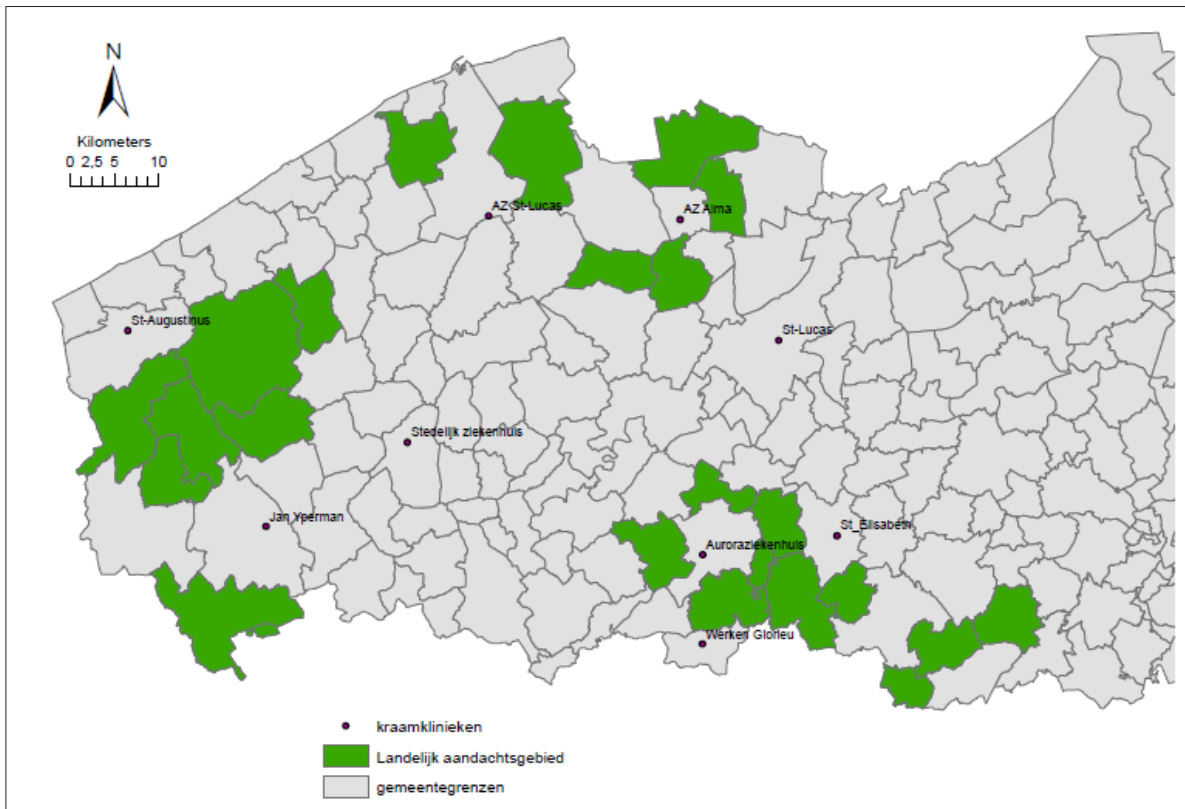
De volgende ziekenhuizen namen deel:

Werken Glorieux, Ronse; St Elisabeth, Zottegem; Jan Ypermanziekenhuis, Ieper; AZ St Alma, Eeklo; Auroraziekenhuis, Oudenaarde; St Lucas, Gent; AZ St Lucas Brugge; St Augustinus, Veurne; Stedelijk ziekenhuis, Roeselare.

De geografische ligging van deze ziekenhuizen is weergegeven in figuur 1.

Binnen elk ziekenhuis werd aan de hoofdgeneesheer en aan het diensthoofd gynaecologie gevraagd om deel te nemen. Indien akkoord, werd de hoofdvroedvrouw op de hoogte gebracht. Er werd een informatiedossier opgemaakt voor de betrokkenen in het ziekenhuis.

De materniteiten werden bezocht door de veldwerkers en er werd in de bevallingsboeken nagekeken welke vrouwen die de afgelopen maand bevallen waren in aanmerking kwamen voor deelname. Er werden afspraken gemaakt voor het verdere verloop van de studie.



figuur 1: Situering van de deelnemende kraamklinieken ten opzichte van het landelijk aandachtsgebied.

### 2.1.2. SELECTIE DEELNEMERS

Het doel was in totaal 100 moeders te rekruteren die wonen in één van volgende gemeenten : Alveringem, Bever, Brakel, Damme, Diksmuide, Galmaarden, Gooik, Heuvelland, Horebeke, Houthulst, Kaprijke, Knesselare, Koekelare, Lierde, Lo-Reninge, Maarkedal, Mesen, Sint-Laureins, Vleteren, Wortegem-Petegem, Zingem, Zomergem, Zuienkerke, Zwalm.

Om te kunnen deelnemen aan deze meetcampagne moesten de moeders aan de volgende criteria voldoen:

- toestemming geven via ondertekening van een geïnformeerd toestemmingsformulier
- borstvoeding geven
- meerderjarig zijn en maximum 35 jaar (35 jaar inclusief)
- geboren in België
- wonen in één van de vermelde gemeenten
- normale zwangerschap (> 36 weken)
- HIV negatief
- bevallen van het 1<sup>ste</sup> kind of 2<sup>de</sup> kind
- niet bevallen van twee- of meerling
- bevallen van een gezonde baby

Aanvankelijk waren de criteria strenger: **maximum leeftijd was 30**, de vrouwen moesten bevallen van een **eerste kindje** en minstens **5 jaar wonen** in één van de vermelde gemeenten, in

overeenstemming met de rekruteringstrategie van de WHO-moedermelkcampagne in 2006. Omdat er onvoldoende moeders in aanmerking kwamen voor deelname werden deze criteria, in overleg met de stuurgroep, versoepeld naar een maximum leeftijd van 35 jaar en ook insluiten van moeders die bevelen van hun tweede kindje. Het mogelijke effect van het versoepelen van beide inclusiecriteria op de pollutengehalten in de moedermelk werd onderzocht aan de hand van de pollutentconcentraties in navelstrengbloed van deelnemers aan de eerste Vlaamse humane biomonitoringcampagne in 2002-2006 (zie bijlage A).

### 2.1.3. REKRUTERING DEELNEMERS

De coördinator en een veldwerker bezochten alle materniteiten bij aanvang van het project. De bedoeling was het personeel op de hoogte te brengen van de procedure. Er werden tevens folders ter beschikking gesteld aan de vroedvrouwen, om uit te delen aan moeders die in aanmerking kwamen voor deelname. Tijdens dat bezoek werd het bevallingsboek nagekeken op vrouwen die de afgelopen maand bevallen waren en die voldeden aan de criteria. De moedermelkstalen dienden genomen te worden in de periode tussen 2 en 8 weken na de bevalling, dus was er voldoende tijd om die vrouwen nog te contacteren. Zo werden 7 deelnemers gerekruteerd. In één ziekenhuis werd het boek door de verpleegdienst zelf nagekeken omwille van de privacy van de patiënten. Zij namen dan contact op met deze vrouwen en vroegen of de vrouwen zelf het PIH wilden contacteren. Dit heeft geen resultaat opgeleverd.

Voor de verdere duur van dit project deden de vroedvrouwen de selectie van de moeders die voldeden aan de 4 basis-inclusiecriteria (wonen in het studiegebied, borstvoeding geven, bevallen van eerste of tweede kind en tussen 18 en 35 jaar oud). Het landelijk gebied is een dun bevolkt gebied en vaak waren er helemaal geen of zeer weinig kandidaten, zodat het niet erg efficiënt was om de moeders persoonlijk op te zoeken in de materniteit.

*tabel 1: Deelnemende kraamklinieken met opstartdatum*

Materniteit	Start rekrutering
Werken Glorieux, Ronse	08/06/2009
AZ Sint-Elisabeth, Zottegem	11/06/2009
Jan Yperman, Ieper	24/06/2009
AZ Alma, Eeklo	06/07/2009
Auroraziekenhuis, Oudenaarde	15/09/2009
AZ Sint-Lucas, Gent	27/10/2009
AZ Sint-Lucas, Brugge	27/10/2009
Sint-Augustinus, Veurne	27/10/2009
Stedelijk ziekenhuis, Roeselare	14/10/2009

De veldwerkers kregen een lijst met naam, geboortedatum van de moeder, woonplaats en datum van de bevalling door. Eén materniteit gaf geen persoonsgegevens door. De moeders mochten enkel gebeld worden via de vroedvrouw, maar niet rechtstreeks door de veldwerkers. De veldwerkers belden de moeders op in de materniteit en gaven informatie over het project. Indien de moeders toestemden werd het materiaal en de documenten (zie bijlage B en C) naar hun thuisadres opgestuurd. Vrouwen die polyklinisch bevelen, werden thuis gebeld.

In totaal werden de moeders minstens vier keer gecontacteerd. Na het eerste gesprek in het ziekenhuis, volgden twee of drie telefonische contacten. Vier weken na de bevalling werden de moeders opgebeld met de vraag of ze nog steeds borstvoeding gaven en werd aan de

monsterafname herinnerd. Moeders die op dat moment nog geen staal hadden, werden opnieuw gecontacteerd als het kindje zeven weken oud was.

Vervolgens werd een huisbezoek afgelegd voor ophaling van de melk samen met het toestemmingsformulier en de vragenlijst.

*tabel 2: Aantal deelnemers*

	<b>N</b>	<b>%</b>
Aantal vrouwen die voldeden aan de 4 basiscriteria	281	100
Gestopt met borstvoeding op ogenblik contact	21	7,5
Weigering	42	14,9
Wonen geen 5 jaar in het gebied	116	41,3
Niet in België geboren	4	1,4
Spreken geen Nederlands	4	1,4
Hebben deelname stopgezet	8	2,8
Kon niet meer gecontacteerd worden	2	0,7
<b>Deelnemers</b>	<b>84</b>	<b>30,6</b>

Omdat de rekrutering zo moeizaam verliep, werd de rekruteringstrategie uitgebreid met het verspreiden van flyers (zie bijlage B) via algemeen toegankelijke kanalen zoals zelfstandige vroedvrouwen, centra voor thuisbevallingen, gynaecologen en de raadplegingen van Kind en Gezin. De flyers bevatten informatie over de studie en een gratis telefoonnummer waarop geïnteresseerden zich konden kandidaat stellen. Er kwam zeer weinig reactie en geen enkele kandidaat voldeed aan de criteria. (kindje ouder dan 8 weken, een derde kindje ...)

### **Weigeringen**

Het is onmogelijk om exacte gegevens in verband met deelnamepercentage en weigeringen te rapporteren. Het aantal weigeringen is onderschat omdat in sommige materniteiten de vroedvrouw het project toelichtte. Als de moeder dan geen interesse had, werden haar gegevens niet doorgegeven.

Door deze procedure weten we dus niet hoeveel moeders er in aanmerking kwamen.

### **Moeders die uit studie stapten**

29 moeders hadden toegezegd maar stapten toch uit de studie en leverden geen moedermelkmonster: 21 omdat ze geen borstvoeding meer gaven en 8 hadden geen interesse meer. Twee moeders konden niet meer gecontacteerd worden.

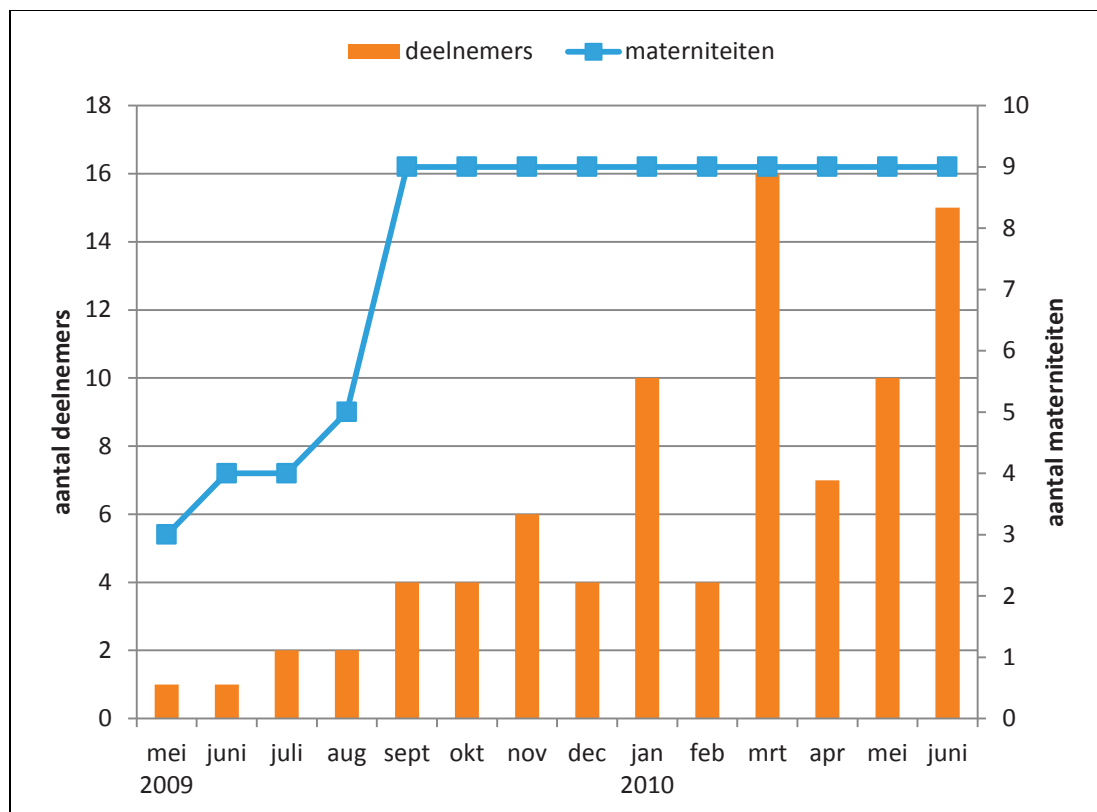
## **2.2. STAALNAME**

### **2.2.1. EVOLUTIE VAN DE STAALNAME**

Van mei tot september 2009 werkten we met 4 materniteiten, daarna werden de 5 andere materniteiten opgestart. De vakantiemaanden zijn niet de beste periode om een programma te starten, het is moeilijk om alle partijen bijeen te krijgen voor een overleg.

Het aantal stalen bleef eerder beperkt, dit is voornamelijk te wijten aan het feit dat het gaat om een dun bevolkt gebied en aan de vereiste om 5 jaar in dit gebied te wonen. Veel jonge koppels

verhuizen als ze een gezin willen beginnen. Dat hebben we ook in de eerste Vlaamse humane biomonitoringcampagne van het Steunpunt Milieu en Gezondheid vastgesteld.



figuur 2: Maandelijks evolutie van het aantal deelnemers en het aantal opgestarte materniteiten

### 2.2.2. MATERIAAL EN WERKWIJZE

#### → Materiaal

De moeders kregen<sup>1</sup> een manuele afkolfpomp van het merk AVENT (type: ISIS Naturally) voor het afkolven van de melk. Dezelfde pomp werd ook gebruikt bij de Belgische deelname aan de vierde WHO-moedermelkcampagne en werd toen getest voor contaminatie van de metingen (Colles et al., 2008). Daarnaast ontving de moeder twee 50 mL PP (polypropyleen)-test tubes (merk: cellstar®), voor bewaring van het melkmonster.

<sup>1</sup> De afkolfpomp mochten de moeders houden als dank voor deelname aan de campagne.

### → Werkwijze afkolven

De moeders kregen richtlijnen in verband met de afname en bewaring van de monsters (gedetailleerde beschrijving, zie bijlage). Aan de moeders werd gevraagd een moedermelkmonster van minstens 50 mL af te kolven met de geleverde pomp. De melk diende gecollecteerd wanneer het kindje tussen de 2 en 8 weken oud was. De moeders mochten zelf kiezen op welk moment melk werd afgekolfd: bij het beëindigen van de borstvoedingsmaaltijd, tijdens het voeden of tussen de voedingen door. We vroegen om te vermijden enkel voormelk te nemen, omdat deze niet vetrijk genoeg is. De melk werd verzameld in het geleverde recipient en de datum/data van afkolven werden genoteerd door de deelnemers. Melk afgekolfd op verschillende tijdstippen mocht worden samengevoegd.

### 2.2.3. REGISTRATIE EN BEWARING

Het moedermelkmonster dat de moeders verzamelden diende na het afkolven maximum 72 uur in de koelkast te worden bewaard ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) en nadien in de diepvriezer geplaatst ( $-18^{\circ}\text{C}$  of lager). Veldwerkers van het PIH haalden de monsters bij de moeders op, waarna ze op het PIH bewaard werden bij  $-20^{\circ}\text{C}$ .

De stalen werden nadien naar VITO getransporteerd, waar de stalen ontdooid en verdeeld werden over verschillende recipiënten voor de betrokken analyselaboratoria en voor verdere bewaring in een biobank op  $-20^{\circ}\text{C}$ . Alle ontvangen stalen en de verdeelde fracties kregen een uniek staalnummer en werden geregistreerd in een databank. Verschillende fracties van dezelfde moeder werden ook voorzien van dezelfde unieke deelnemercodes die ook op de vragenlijsten van die persoon werd gezet. Deze deelnemercodes bestond uit het nummer van de kraamkliniek ('a'), gevolgd door een volgnummer van de deelnemer ('b'), waardoor de deelnemercodes als volgt werd samengesteld: 'aabbb'.

Vanuit VITO werden de verschillende fracties in koelboxen met droogijs naar de respectievelijke analyselaboratoria verstuurd via een koerierdienst.

### 2.2.4. VRAGENLIJSTEN

Alle moeders die een toestemmingsformulier ondertekenden, kregen een vragenlijst (zie bijlage) met vragen die peilden naar:

- Adresgegevens van de laatste 5 jaar
- Geboortedatum, gewicht en lengte van de moeder
- Geboortedatum en geslacht van de baby
- Voedingsgewoontes van de moeder en inname van lokale voeding
- Rookgedrag en alcoholconsumptie
- Vruchtbaarheidsgegevens
- Gezondheidsgegevens, zoals ziektes tijdens de zwangerschap, astma en allergie
- Gebruik van foliumzuur
- Beroepsblootstelling

- Mogelijke binnenhuisbronnen
- Sociaal-economische factoren
- Herkomst van de grootouders van de baby
- Perceptie milieuproblematiek

Deze vragenlijst werd door de moeder ingevuld en door de veldwerkers opgehaald bij het verzamelen van de moedermelkstalen. Een tweede kort invulblad bevatte informatie over het tijdstip van melkcollectie, de leeftijd van de baby op het afnametijdstip en de wijze van afkolven.

## HOOFDSTUK 3. ANALYSEMETHODEN

---

### 3.1. CHEMISCHE ANALYSE MOEDERMELKSTALEN

De chemische analyses werden uitgevoerd op 84 individuele stalen (40 random geselecteerde individuele stalen voor de perfluorverbindingen) en op één mengstaal. Voor de samenstelling van het mengstaal werd 10 mL van elk van de 84 individuele stalen samengevoegd.

Op de 84 individuele moedermelkstalen werden volgende analyses uitgevoerd:

- Toxicologische Centrum, Universiteit Antwerpen (o.l.v. Adrian Covaci)
  - Merker PCB's
  - Organochloorpesticiden (p,p'-DDE, HCB,  $\alpha$ -,  $\beta$ - en  $\gamma$ -HCH, chlordanen, transnonachlor en oxychlordanen)
  - Vlamvertragers (PBDE's)
- Department of Analytical & Environmental Chemistry, Vrije Universiteit Brussel (o.l.v. Willy Baeyens)
  - Dioxineachtige stoffen (CALUX assay)

Op de 40 random geselecteerde individuele stalen werden onderstaande metingen uitgevoerd:

- National Institute of Public Health, Oslo, Noorwegen (o.l.v. Georg Becher)
  - Perfluorverbindingen (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS, PFDA, PFUnDA, PFHpS)

Elk van bovenstaande laboratoria ontving naast de individuele stalen ook 10 mL van het mengstaal waarop dezelfde metingen werden uitgevoerd als op de individuele stalen. Bijkomend werd 400 mL van het mengstaal geanalyseerd door het WHO-referentielaboratorium in Freiburg. Een overzicht van de metingen wordt gegeven in tabel 3.

tabel 3: Overzicht van de pollutanten gemeten in de individuele stalen en in het mengstaal.

Polluent	Individuele stalen (n=84)	Mengstaal UA	Mengstaal VUB	Mengstaal Oslo	Mengstaal WHO
Aldrin					X
Dieldrin					X
Endrin					X
Heptachloor					X
Chlordaan	X	X			X
DDT	X	X			X
HCB	X	X			X
HCH	X	X			X
Merker-PCB's	X	X			X
Toxafeen					X
Dioxineachtige PCB's					X
PCDD/F's					X
PBDD/F's					X
Dioxineachtige stoffen	X		X		
PBDE's	X	X			X
HBCD					X
endosulfan					X
bromocyclen					X
S-421					X
Musk xyleen					X
Musk keton					X
Nitrofen					X
Pendimethalin					X
PFOS*	X			X	
PFOA*	X			X	
PFNA*	X			X	
PFHXS*	X				
PFDA*	X				
PFUnA*	X				
PFHpS*	X				

\* bij 40 individuele stalen

### 3.1.1. BESCHRIJVING VAN DE POLLUENTEN

VERBRANDINGSPRODUCTEN	
Polygechloreerde dibenzodioxinen (PCDD's)* en Polygechloreerde dibenzofuranen (PCDF's)*	<p>PCDD's en PCDF's worden meestal samen genoemd onder de term 'dioxinen'. Ze komen vrij bij afvalverbranding en als uitstoot bij non-ferro bedrijven, verwarmingssystemen (vooral houtkachels) en bij branden. De toxiciteit van PCDD/F's is afhankelijk van het aantal en de plaats van de chlooratomen. Het grootste deel van de dioxinen komt in ons lichaam terecht via de voeding.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> Dioxinen zijn kankerverwekkend, kunnen een effect hebben op groei en ontwikkeling, kunnen de werking van hormonen en van het afweersysteem in het lichaam verstoren. In 2001 werd door de 'Joint FAO/WHO expert committee on food additives' een <b>PTMI</b>-waarde (provisional tolerable monthly intake) voorgesteld voor PCDD/PCDF's en dioxine-achtige PCB's van <b>70 µg TEQ/kg lichaamsgewicht</b>.</p>
Polygebromineerde dioxines and dibenzofuranen (PBrDD/F)	Bij verbranding (van afval of accidenteel) kunnen gebromeerde dibenzo-p-dioxinen en dibenzofuranen ontstaan (PBDD/F's) of gemengde gebromeerde-gechloreerde dibenzodioxines en dibenzofuranen (PXDD/F's). Al deze producten zijn lipofiel, persistent en bioaccumuleren. PBDD/F- en PXDD/F-congeneren hebben een
Gemengde gehalogeneerde	

(polygebromineerde/-gechlorineerde) dioxines en dibenzo-furanen (PXDD/F)	gelijkaardige toxiciteit als de gechloreerde homologen (PCDD/F). Het stijgend gebruik van gebromeerde vlamvertragers, zorgt ervoor dat de concentratie van deze componenten, in tegenstelling tot de meeste gechloreerde POP's toenemen.
<b>GECHLOREERDE OLIËN</b>	
<p>Gechloreerde bifenylen (PCB's)*:</p> <p>Merker PCB's: 28, 52, 101, 138, 153, 180</p> <p>mono-ortho PCB's: 105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189</p> <p>non-ortho PCB's: 77, 81, 126, 169</p>	<p>PCB's zijn een groep van 209 scheikundige verbindingen van antropogene oorsprong. Ze werden door de industrie gebruikt o.a. in transformatoren en condensatoren (bijvoorbeeld in transformatoren van koelkasten). PCB's komen in het milieu bij lekken uit deze toestellen en bij afvalverbranding. In België is de productie van PCB's <b>verboden sinds 1986</b>.</p> <p>Het aantal en de positie van de chlooratomen (<i>meta</i>, <i>ortho</i> of <i>para</i>) bepaalt de toxiciteit van het PCB. Op basis van de positie van de chlooratomen, worden PCB's opgedeeld in groepen. Hoe vlakker de structuur (meer planair, zoals het dioxine 2,3,7,8-TCDD) des te toxischer ze zijn. De <b>merker PCB's</b> worden vaak en vrij eenvoudig gemonitord voor bepaling van blootstelling aan PCB's. De congenere PCB 138, 153 en 180 maken zelfs 55% uit van de totale PCB-mix en deze drie congenere zijn bovendien erg resistent tegen degradatie in het lichaam.</p> <p><b>Non-ortho PCB's</b> hebben de meest vlakke structuur met twee <i>para</i>- en ten minste twee <i>meta</i>-gepositioneerde chlooratomen. Deze PCB's vertonen een grote gelijkheid met het zeer toxische dioxine 2,3,7,8-TCDD wat hun affiniteit voor de Ah-receptor betreft. Bij <b>mono-ortho PCB's</b> staat er ook één chlooratoom op de <i>ortho</i>-positie wat leidt tot een minder vlakke structuur en lagere toxiciteit door verminderde affiniteit voor de Ah-receptor. Sommige mono- en di-ortho PCB's kunnen toch belangrijke toxische reacties uitlokken. Het achterliggend mechanisme is nog niet gekend.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> PCB's kunnen leiden tot een lager geboortegewicht, verstoring van de schildklierwerking en een minder snelle verstandelijke ontwikkeling. PCB's kunnen de werking van hormonen en van het afweersysteem in het lichaam verstoren. In tegenstelling tot postnatale blootstelling via moedermelk blijkt prenatale blootstelling aan PCB's de meest kritische factor voor toekomstige groei en ontwikkeling.</p> <p>In 2001 werd door de 'Joint FAO/WHO expert committee on food additives' een <b>PTMI</b>-waarde (provisional tolerable monthly intake) voorgesteld voor PCDD/PCDFs én dioxine-achtige PCB's van <b>70 µg TEQ/kg lichaamsgewicht</b>. De groep besloot dat het nog onmogelijk is een wetenschappelijk juiste TDI-waarde vast te stellen voor PCB-mengsels en individuele niet-dioxine-achtige PCB's</p>
<b>GECHLOREERDE PESTICIDEN</b>	
Aldrin* Dieldrin*	<p>Aldrin en dieldrin zijn bodeminsecticiden bij graan- en katoenteelt en komen in het lichaam en in het leefmilieu meestal samen voor. Zonlicht en bacteriën kunnen Aldrin omzetten tot dieldrin. Ze gaan sterke bindingen aan met bodempartikels en sedimenten en verdampen traag. In de voedselketen worden deze stoffen opgeslagen in het vetweefsel. De belangrijkste blootstellingsweg is consumptie van dierlijke voedingsproducten. In 1974 werden aldrin en dieldrin door de EPA verboden, behalve voor bestrijding van termieten. Sinds 1987 bestaat op het gebruik van deze stoffen een <b>volledig verbod</b>. In België werd het gebruik van dieldrin voor landbouwtoepassingen <b>verboden in 1974</b> en voor alle andere toepassingen in <b>1976</b>.</p> <p>De 'Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues' stelde een PTDI<sup>2</sup> (provisional tolerable daily intake) vast van <b>0.1 µg dieldrin per kg lichaamsgewicht</b>.</p>
Endrin groep* Endrin, endrin keton	<p>Endrin is een organochloorinsecticide, rodenticide en avicide dat gebruikt werd ter bestrijding van insecten, knaagdieren en vogels. Het is zeer weinig oplosbaar in water en wordt slechts in kleine concentraties aangetroffen in het grond- en oppervlaktewater. De persistentie van endrin in het leefmilieu (vooral bodem) is erg afhankelijk van lokale condities. In België is het gebruik van endrin in de landbouw <b>nooit erkend</b>. Voor andere toepassingen is endrin nooit op de Belgische markt gebracht.</p> <p>De 'Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues' stelde een PTDI (provisional tolerable daily intake) vast van <b>0,2 µg endrin per kg lichaamsgewicht</b>.</p>
Heptachloor groep*	<p>Heptachloor is een cyclodieen insecticide dat gebruikt werd voor bestrijding van insecten in gebouwen en bij landbouwgewassen (voornamelijk granen). Bacteriën en dieren breken heptachloor af tot heptachloorepoxide, dat makkelijker oplost. Planten</p>

<sup>2</sup> PTDI: provisional tolerable daily intake = maximale toelaatbare inname per dag bij levenslange blootstelling van een milieucontaminant. Indien dossier niet volledig is wordt een 'provisional (=tijdelijke) tolerable intake' vastgelegd.

<p>Hepatchloor, (cis/trans) Heptachloorepoxide</p>	<p>nemen heptachloor op uit de bodem. Zowel heptachloor als heptachloorepoxide accumuleren in vetweefsel, waaruit het slechts heel langzaam geëlimineerd wordt. Gebruik van heptachloor werd in België <b>verboden in 1976</b>.</p> <p>In 1994 werd door JMPR (Joined FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues) een <b>PTDI<sub>2</sub></b> (provisional tolerable daily intake) vastgelegd van <b>0,1 µg heptachloor en heptachloorepoxide per kg lichaamsgewicht</b>, gebaseerd op een NOAEL (no observed adverse effect level) van 0,025 mg/kg lichaamsgewicht en een onzekerheidsfactor van 200.</p>
<p>Chlordaan groep*: α-chlordaan, γ-chlordaan, oxychlordaan, trans- nonachlor</p>	<p>Chlordaan komt voor onder twee isomeren, α- en γ-chlordaan, ook wel cis- en trans-chlordaan genoemd. De commerciële vorm is een cyclodieën breedspectrum insecticide dat bestaat uit een mengsel van pure chlordaan en vele verwante chemicaliën, waaronder transnonachlor. Transnonachlor en de chlordaanisomeren kunnen door organismen worden omgezet tot oxychlordaan. Chlordaan werd toegepast bij granen, citrusvruchten en in particuliere gazons en tuinen. Het bindt stevig aan de oppervlakte van bodempartikels en kan tot meer dan 20 jaar in de bodem en sedimenten aanwezig blijven. Het accumuleert in weefsel van vissen, vogels en zoogdieren. In 1983 werd chlordaan door EPA verboden, behalve voor termietenbestrijding. Sinds 1988 werd <b>alle gebruik verboden</b>. In België werd het gebruik van chlordaan voor landbouwtoepassingen <b>verboden in 1981</b> en voor alle overige toepassingen in <b>1998</b>.</p> <p>De 'Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues' stelde een PTDI<sub>2</sub> (provisional tolerable daily intake) vast van <b>0.5 µg chlordaan per kg lichaamsgewicht</b>.</p>
<p>DDT groep*: o,p'-DDD, p,p'-DDD, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDT</p>	<p>DDT (dichlorodifenyiltrichloroethaan) is een breedspectrum-insecticide dat wereldwijd gebruikt werd ter bestrijding van insecten in de landbouw en ter bestrijding van ziektedragende insecten. In België werd het gebruik van DDT voor landbouwtoepassingen <b>verboden in 1974</b> en voor alle overige toepassingen in <b>1976</b>. In sommige (ontwikkelings)landen wordt DDT nog steeds gebruikt. DDE (dichlorodifenyldichloroethyleen) en DDD (dichlorodifenyldichloroethaan) zijn afbraakproducten van DDT. DDT, DDE en DDD zijn aanwezig in de lucht, de bodem en het water. DDT en vooral DDE accumuleren in planten en in vetweefsel van vissen, vogels en andere dieren. Voornaamste blootstelling via consumptie van knolgewassen, bladgroenten en vet vlees, vis en kip.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> Aangenomen wordt dat vooral de prenatale blootstelling oorzaak is van gezondheidseffecten bij het kind. Na prenatale blootstelling aan p,p'-DDE werd een vertraging van de psychomotorische ontwikkeling vastgesteld.</p> <p>In 2000 werd voor DDT (p,p'-DDT + o,p'-DDT + p,p'-DDE + o,p'-DDE) een PTDI<sub>2</sub> (provisional tolerable daily intake) vastgelegd van <b>0,01 mg/kg lichaamsgewicht</b>.</p>
<p>Hexachloorbenzeen (HCB)*</p>	<p>Hexachloorbenzeen is een schimmelwerend middel voor planten, zaden en granen. Het is echter ook een industrieel product, dat vroeger werd gebruikt bij de productie van vuurwerk, munitie en synthetisch rubber. In België werd het gebruik van hexachloorbenzeen <b>verboden in 1974</b>. Het komt echter nog in het milieu terecht als bijproduct in de chemische industrie, in afvalstromen van chlooralkali- en houtbeschermingsindustrie en bij verbranding van huishoudelijk afval. Het bindt sterk aan bodempartikels, breekt heel traag af en kan dus lange tijd in de bodem aanwezig zijn. Kleine hoeveelheden kunnen in het drinkwater aanwezig zijn.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> hexachloorbenzeen kan de werking van hormonen verstoren en dus de vruchtbaarheid verminderen. Er werd geen verband gevonden tussen prenatale blootstelling aan HCB en een vertraging van de mentale en psychomotorische ontwikkeling bij kinderen van 13 maanden. Wel werd een zwakke dosis-respons relatie beschreven tussen HCB-waarden in het bloed en het gehalte aan afweerstoffen.</p> <p>De WHO legde een TDI-waarde op van 0,17 µg/kg lichaamsgewicht voor niet-carcinogene effecten en een richtwaarde van 0,16 µg/kg lichaamsgewicht voor carcinogene effecten.</p>
<p>Hexachloorcyclohexaan (HCH) groep: α-HCH, β-HCH, γ-HCH</p>	<p>Hexachloorcyclohexaan is een industrieel chemisch product dat bestaat uit acht isomeren. Eén van deze vormen, γ-HCH (lindaan), werd vroeger gebruikt als insecticide bij het telen van fruit en groenten. Het is wel nog beschikbaar als preparaat (lotion, crème of shampoo) tegen luizen en schurft. In België worden alle niet-landbouwkundige toepassingen van lindaan twee jaar na het inwerking treden van het Protocol inzake Persistente Organische Verontreinigende stoffen bij het Verdrag van 1979 opnieuw geëvalueerd. Sinds <b>2003</b> is dit protocol van kracht. <b>Landbouwkundige toepassingen kunnen enkel plaatsvinden als uitwendig gebruik door veeartsen onder</b></p>

	<p><b>toelating van de FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de voedselketen en Leefmilieu.</b> HCH kan voor een lange periode in de omgevingslucht verblijven onder de vorm van gassen of gebonden aan deeltjes en over grote afstanden getransporteerd worden. HCH accumuleert in vetweefsel. Het <math>\alpha</math>- en <math>\gamma</math>-isomeer (lindaan) worden vrij snel omgezet tot <math>\beta</math>-isomeer. Indien lindaan aangetroffen wordt, wijst dit op recente blootstelling. Het <math>\beta</math>-isomeer is stabiel en wordt het traagst afgebroken en geëlimineerd uit het lichaam. Als gevolg hiervan is 90% van het waargenomen HCH in humaan weefsel en moedermelk <math>\beta</math>-HCH.</p> <p>De maximale ADI<sup>3</sup> (acceptable daily intake) voor <b>lindaan</b> is in 2002 vastgelegd op 0.005 mg/kg lichaamsgewicht. De acute reference dose (ArfD)<sup>4</sup> voor lindaan werd bepaald op 0.06 mg/kg lichaamsgewicht.</p>
<b>PESTICIDEN</b>	
Toxafeen groep*: Parlar 26, parlar 50 en parlar 62	Toxafeen is een insecticidemengsel dat bestaat uit 670 chemicaliën. Het werd toegepast in katoen-, granen-, fruit-, noten- en groententeelt en als middel tegen teken en mijten bij vee. Het was een vervangend insecticide voor o.a. DDT. In België is het gebruik van toxafeen voor niet-landbouwtoepassingen nooit toegestaan. Sinds <b>1975 is het verboden in de landbouw</b> . Toxafeen wordt getransporteerd via de atmosfeer. <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> Toxafeen is een mutagene stof die de hormonenhuishouding van dier en mens kan beïnvloeden.</p>
Endosulfaan groep: $\alpha$ -endosulfaan, $\beta$ -endosulfaan, $\gamma$ -endosulfaan	Endosulfaan komt voor onder verschillende isomeren, $\alpha$ -endosulfaan, $\beta$ -endosulfaan, $\gamma$ -endosulfaan. Het is een niet-systematisch contactinsecticide/acaricide dat gebruikt werd bij een brede waaier aan voedingsgewassen en andere gewassen. Er is risico tot bioconcentratie, maar bij vrijkomen in het leefmilieu is endosulfaan onderhevig aan biodegradatie en hydrolyse. Endosulfaan is <b>in België niet</b> meer als pesticide erkend.
S-421	S-421 is een synergist voor pyrethroïde en organofosfaatpesticiden. Het wordt gebruikt in termiticides en in huishoudelijke insecticides. S-421 is mutageen, stabiel en alomtegenwoordig in het leefmilieu. Het wordt aangetroffen in huishoudelijk stof, oppervlaktewater, sedimenten en regenwater.
<b>VLAMVERTRAGERS</b>	
Polygebromeerde difenylethers (PBDE's)	PBDE's zijn vlamvertragers die wereldwijd in heel wat materialen gebruikt worden zoals elektronica-producten, textiel en meubels. Productie en gebruik van PBDE's begon in de jaren '60-'70 (Hooper & McDonald, 2000; WHO, 1994). Theoretisch bestaan er 209 PBDE-congeneren die genummerd worden volgens het nummeringssysteem van de PCB's. De belangrijkste opnameroute voor de mens is waarschijnlijk consumptie van PBDE-bevattende vis. PBDE verspreidt zich in de binnenhuisatmosfeer, waardoor blootstelling optreedt via inademen van gasvormige en aan-stofdeeltjes-gebonden PBDE's. Europese richtlijn 2003/11/EG weert het gebruik van penta- en octa-BDE in alle verbruiksgoederen vanaf 15 augustus 2004. Aanwezigheid van alle PBDE's is verboden in elektronische apparatuur vanaf 1 juli 2006, met uitzondering van decaBDE (richtlijn 2002/95/EG). <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> PBDEs kunnen een effect hebben op de hormonenhuishouding en op de schildklierwerking. Sommige studies tonen een verband met reproductieve en neurologische risico's.</p> <p>In 2005 werd door de 'Joint FAO/WHO expert committee on food additives' besloten dat er onvoldoende data is om een intake-waarde vast te leggen. De opname van PBDE via de voeding wordt niet beschouwd als een belangrijk gezondheidsprobleem.</p>
Hexabromocyclododecaan (HBCD)	HBCD is een cyclisch alifatische brandvertrager die bestaat uit een mengsel van drie stereoisomeren, alfa, beta en gamma. Het wordt voornamelijk toegepast in polystyreenschuim, gebruikt als thermische isolatie in de bouwnijverheid en in textiel bestemd voor het stofferen van meubels. Onderzoek naar de toxiciteit van HBCDs en

<sup>3</sup> ADI: acceptable daily intake. De term 'acceptable' wordt gegeven bij gebruikte producten met voldoende volledig dossier. Het geeft de maximale lange-termijnblootstelling gemiddeld per dag, zonder nadelige invloed.

<sup>4</sup> acute referentiedosis voor occasionele korte-termijnblootstelling (1 dag)

	het gedrag van deze stoffen in het milieu is nog volop aan de gang. Er wordt verwacht dat HBCD bindt met bodemdeeltjes, sediment en organisch materiaal en in de bodem immobiel aanwezig blijft. Ook wordt een hoog bioaccumulatiepotentiëel verwacht.
<b>INDUSTRIËLE PRODUCTEN</b>	
Perfluorooctaansulfonaat (PFOS), perfluorooctaanzuur (PFOA)	<p>PFOS en PFOA zijn twee pergefluorineerde componenten of PFC's. PFOA ontstaat ook door het telomerisatieproces waarmee Teflon en Goretex vervaardigd worden. PFOS en PFOA zijn chemisch en thermisch inert en water- en olie-afstotend. Omwille van deze eigenschappen worden deze producten veel gebruikt bij behandeling van tapijten, stoffen, bekleding van meubels, papierindustrie, voedingsverpakkingen, brandbestrijdende middelen, schoonmaakmiddelen, fotografische film, shampoo en cosmetica. PFOS en PFOA zijn wereldwijd verspreid en persistent aanwezig in aquatische en terrestrische levende organismen, waarbij PFOA minder frequent voorkomt dan PFOS. Ze accumuleren in bloed, lever en galblaas. Studies naar verspreidingsmechanismen en blootstellingswegen zijn in een beginfase.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> De relatie tussen PFC-blootstelling en overeenkomstige gezondheidseffecten bij de mens is nog niet duidelijk bepaald. PFOS en PFOA zouden het communicatiesysteem tussen de cellen bemoeilijken wat kan leiden tot abnormale celgroei en -functie. Chronische verstoring van de communicatie tussen cellen kan aanleiding geven tot neurologische, cardiovasculaire, reproductieve en hormonale storingen. Er zijn ook aanwijzingen dat PFOS en PFOA het risico verhogen op lever-, blaas- en prostaatkanker, maar verder onderzoek is nodig.</p>
Musk groep: Musk-xylol, Musk keton	<p>Synthetische musk componenten bestaan uit een groep nitroaromatische musks en polycyclische musks. De twee meest gebruikte nitromusks zijn musk xyleen en musk keton. Musk xyleen wordt veel gebruikt als synthetische substituuut voor natuurlijke musk in detergents en zeep, musk keton wordt vooral toegepast in cosmeticaproducten. De overige nitromusks worden in kleinere hoeveelheden in detergents gebruikt.</p> <p><b>Belangrijkste gezondheidseffecten:</b> Humane blootstelling aan synthetische muskcomponenten zou vooral optreden via orale opname (voedsel en lipstick), dermaal contact en inademing. Er is slechts weinig gekend over de gezondheidseffecten van synthetische muskcomponenten bij de mens. Door neurotoxiciteit bij ratten en fotosensitiviteit bij de mens werd het gebruik van <b>musk ambrette</b> (uit de nitromusk groep) <b>verboden in 1995</b>. Ten gevolge van de mogelijke bioaccumulatie en toxicologische gevolgen van musk xyleen werd het in 1997 opgenomen in de "Derde lijst van chemicaliën voor prioriteitsbehandeling" van de EU. Ook het gebruik van musk tibeteen en musk moskeen in cosmetica en verzorgingsproducten is verboden. De toepassing van <b>musk xyleen</b> en <b>musk keton</b> in dezelfde producten werd aan regels onderworpen en <b>moet worden afgebouwd</b>. De polycyclische musks HHCB en AHTN werden opgenomen in de "Vierde lijst van chemicaliën voor prioriteitsbehandeling". Er werden nog geen officiële TDI-waarden vastgesteld voor de verschillende muskcomponenten.</p>

### 3.1.2. INDIVIDUELE STALEN

#### → Persistente pollutanten

Een beschrijving van de analysemethode is weergegeven in bijlage D.

#### → Perfluorverbindingen

De gebruikte analysemethode wordt beschreven in Thomsen *et al.* (in press).

### → Dioxine-achtige stoffen

Een beschrijving van de analysemethode is gegeven in bijlage E.

#### 3.1.3. MENGSTAAL

De metingen op de mengstalen uitgevoerd door de Vlaamse Laboratoria gebeurde op dezelfde wijze als de individuele stalen.

### 3.2. STATISTISCHE ANALYSE

#### 3.2.1. INDIVIDUELE STALEN

Voor alle individueel gemeten pollutanten werden beschrijvende statistische parameters berekend. De volgende gegevens worden weergegeven: steekproefgrootte, het geometrisch gemiddelde met een 95% betrouwbaarheidsinterval, minimum, P10, P25, mediaan, P75, P90, maximum en het percentage van deelnemers met een waarde boven de kwantificatielimiet (LOQ). Het geometrisch gemiddelde wordt verkregen na terugtransformatie van de gemiddelden van de natuurlijk logaritmisches getransformeerde data. Voor de berekening van het geometrisch gemiddelde worden waarden onder de LOQ vervangen door de helft van de LOQ. Dit werd enkel gedaan voor de pollutanten die in meer dan 50% van de stalen boven de LOQ lagen.

Deze beschrijvende statistieken worden berekend voor de gehele populatie en voor subgroepen gedefinieerd op basis van kenmerken van de deelnemers (zie bijlage F). Bij deze regressies werden de mogelijke invloedsvariabelen dus beschouwd als categorische variabelen (subgroepen) waardoor de relaties met de pollutantgehalten niet noodzakelijk lineair moesten zijn. Deze opsplitsing in subgroepen en bijhorende regressieanalyses werden enkel gedaan voor de pollutanten die in meer dan 50% van de stalen boven de LOQ lagen.

Als een tweede stap, worden meervoudige regressiemodellen samengesteld om het effect van één invloedsvariabele op de pollutant te bestuderen, gecorrigeerd voor de andere variabelen in het model (bijlage G). Hierbij werden op voorhand een aantal vaste confounders geselecteerd, waarvoor onafhankelijk van hun p-waarde altijd gecorrigeerd werd. De invloedsvariabelen die bij de enkelvoudige regressies een p-waarde kleiner dan 0,25 hadden werden samen getest in een stapsgewijze selectie, waarbij enkel de invloedsvariabelen met een p-waarde < 0,10 behouden werden.

#### 3.2.2. MENGSTALEN

Voor de analyse van het mengstaal is voor elke pollutant slechts 1 meetwaarde gegeven. Vergelijking van dit mengstaal met de resultaten van het mengstaal van de WHO-populatie van 2006 is niet mogelijk gebruik makend van een statistische test. Toch kunnen beide meetresultaten niet zomaar met elkaar vergeleken worden. Er moet worden rekening gehouden met een zekere variatie op de meetwaarde. Deze variatie is enerzijds te wijten aan technische variatie door de

meetmethode. Deze is afhankelijk van het analyselaboratorium en van de pollutent. Daarnaast speelt ook de biologische variatie een rol, bepaald door de kenmerken en de samenstelling van de studiepopulatie. Deze biologische variatie kan voor de pollutenten die ook in de individuele stalen werden gemeten, bepaald worden als de variatiecoëfficiënt. De variatiecoëfficiënt wordt berekend uit de standaardafwijking en de gemiddelde concentratie van de pollutent. De variatiecoëfficiënt is dimensieloos en een maat voor de relatieve spreiding door de spreiding te meten ten opzichte van het gemiddelde.

## HOOFDSTUK 4. RESULTATEN

---

### 4.1. BESCHRIJVING STUDIEPOPULATIE

De karakteristieken van de 84 deelnemers aan deze moedermelkstudie zijn weergegeven in tabel 4. Aangezien bij de statistische verwerking alle variabelen als categorische variabelen werden gebruikt, worden bij de beschrijving van de studiepoulatie voor de variabelen dezelfde categorieën gegeven als gebruikt in de statistische verwerking.

Omdat de analyseresultaten van de studiepoulatie in het landelijk aandachtsgebied zal vergeleken worden met de Belgische resultaten van de WHO-moedermelkcampagne in 2006, worden ook enkele relevante populatiekarakteristieken van beide studies vergeleken.

In de huidige studiepoulatie is 30% van de deelnemers ouder dan 30 jaar, 17% is jonger dan 26 jaar. De gemiddelde leeftijd van deze studiepoulatie bedraagt dan ook 28,5 jaar (range 20,6 – 35,6 jaar) en is hoger dan de gemiddelde leeftijd van de Belgische deelnemers aan de WHO-moedermelkcampagne van 2006 (gemiddelde 26 jaar), waar een leeftijdsgrens van 30 jaar werd toegepast.

De gemiddelde Body Mass Index (BMI) bedraagt bij deze studiepoulatie 23,0 kg/cm<sup>2</sup> (range 17,7 – 45,6 kg/cm<sup>2</sup>) en is vergelijkbaar met deze van de Belgische studiepoulatie in 2006 (gemiddeld 23 kg/cm<sup>2</sup>, range 16 – 38 kg/cm<sup>2</sup>).

Iets minder moeders waren zelf eerste kind (40% in de huidige studiepoulatie en 51% in de Belgische WHO-studiepoulatie) en een vergelijkbaar aantal moeders kreeg vroeger zelf borstvoeding (48% in de huidige studiepoulatie en 52% in de Belgische WHO-populatie).

Ook zijn er enkele verschillen merkbaar in de voedingsgewoonten. De studiepoulatie uit het landelijke aandachtsgebied eet meer vis (18% eet 2 keer per week of meer vis, versus 6% in de Belgische WHO-populatie) en de geconsumeerde vis is vooral zeevis (74% zeevis in de huidige studiepoulatie versus 38% in de Belgische WHO-populatie). De deelnemers van de huidige studiepoulatie wonen dan ook allemaal in Oost- en West-Vlaanderen (nabijheid Noordzee), daar waar de Belgische WHO-populatie was samengesteld uit deelnemers van Vlaanderen, Brussel en Wallonië. Ook eten de moeders uit het landelijke aandachtsgebied meer vlees (80% eet elke dag vlees versus 66% in de Belgische WHO-populatie). Ook zijn de eieren in het landelijke aandachtsgebied meer afkomstig van eigen kippen (57% versus 47% in de Belgische WHO-populatie).

tabel 4: Karakteristieken van de studiepogulatie (Indien de som niet gelijk is aan 84, zijn er deelnemers die de vraag niet hebben ingevuld. Het percentage is berekend op het aantal beschikbare antwoorden.)

Karakteristieken studiepogulatie	N	%
Aantal	84	100%
Woonzone landelijk aandachtsgebied		
Zuierenkerke – Damme	2	2%
Regio Heuvelland	1	1%
Regio Diksmuide	34	40%
Zwalmstreek	32	38%
Regio Knesselare	15	18%
Aantal jaren wonen in het landelijke aandachtsgebied		
< 5 jaar	15	18%
5 – 20 jaar	31	37%
≥ 20 jaar	38	45%
Leeftijd		
≤ 26 jaar	14	17%
26 – 28 jaar	21	25%
28 – 30 jaar	23	28%
> 30 jaar	25	30%
Lengte moeder		
< 164 cm	16	19%
164 – 168 cm	22	26%
168 – 171 cm	26	31%
≥ 171 cm	20	24%
Gewicht voor de zwangerschap (kg)		
< 57 kg	18	21%
57-63 kg	27	32%
63-71 kg	22	26%
≥ 71 kg	17	20%
BMI		
Ondergewicht (< 18,5 kg/cm <sup>2</sup> )	7	8%
Normaal gewicht (18,5 – 25 kg/cm <sup>2</sup> )	59	70%
Overgewicht (25 – 30 kg/cm <sup>2</sup> )	13	15%
Zwaarlijvig (≥ 30 kg/cm <sup>2</sup> )	5	6%
Gewichtswijziging na de zwangerschap		
bijgekomen	39	50%
afgevallen	14	18%
ongewijzigd	25	32%
Roken voor de zwangerschap		
Nooit roker	40	48%
Ex-roker	20	24%
roker	23	28%
Roken tijdens de zwangerschap		
ja	9	11%
nee	74	89%
Opleidingsniveau moeder		

Karakteristieken studiepopulatie	N	%
Lager secundair onderwijs	7	8%
Hoger secundair onderwijs	19	23%
Hoger onderwijs	58	69%
Soort werk voor de zwangerschap		
Vrij beroep	2	2%
Zelfstandige	4	5%
Niet-geschoolde arbeider	2	2%
Geschoolde arbeider	6	7%
Bediende	51	61%
Hoger bediende of kaderlid	2	2%
Onderwijzend personeel	14	17%
Ander	3	4%
Moeder deelnemer is Belgisch	83	99%
Zelf eerste kind	33	40%
Kreeg zelf borstvoeding	38	48%
Voedingsconsumptie		
Consumptie vis		
Nooit of < 1 keer per week	30	36%
1 keer per week	39	46%
2 keer per week of meer	15	18%
Soorten vis		
geen	2	3%
zeevis	59	74%
zoetwatervis	11	14%
beide	8	10%
Consumptie schaal- en schelpdieren		
Nooit of < 1 keer per week	70	83%
1 keer per week of meer	14	17%
Consumptie melk en melkproducten		
Minder dan elke dag	16	19%
Elke dag	67	81%
Consumptie vlees en gevogelte		
Minder dan elke dag	17	20%
Elke dag	67	80%
Consumptie eieren		
Nooit of < 1 keer per week	47	56%
1 keer per week	29	35%
2 keer per week of meer	8	10%
Consumptie voedingssupplement visolie		
nooit	65	77%
2 keer per week of minder	10	12%
Meer dan 2 keer per week	9	11%
Eieren afkomstig van eigen kippen		
nee (= nooit)	36	43%
Ja (= zelden+vaak+altijd)	48	57%
Zijn de aardappelen zelf geteeld		
nee (= nooit)	47	56%
Ja (= zelden+vaak+altijd)	37	44%

Karakteristieken studiepopulatie	N	%
Zijn de groenten zelf geteeld		
nooit	35	42%
zelden	18	21%
Vaak of altijd	31	37%
Is fruit zelf geteeld		
nee (= nooit)	56	67%
Ja (= zelden+vaak+altijd)	28	33%
Is het vlees zelf gekweekt		
nee (= nooit)	56	67%
Ja (= zelden+vaak+altijd)	28	33%
Eetgewoonten voor de zwangerschap		
gevariëerd	82	98%
Vegetarisch met melk en ei	2	2%
Leeftijd baby bij eerste afkolfmoment		
2-3 weken	28	35%
4-5 weken	40	51%
6-8 weken	11	14%
% jongens	44	52%
Pariteit		
1 <sup>ste</sup> kind	48	57%
2 <sup>de</sup> kind	36	43%

#### 4.2. BLOOTSTELLINGSGEGEVENS

De analyseresultaten van de individuele moedermelkstalen en de mengstalen worden hieronder weergegeven. De analyselaboratoria die vetoplosbare polluenten analyseerden (UA, VUB en het WHO-referentielaboratorium) bepaalden elk het vetpercentage van de hen toegezonden stalen. Bepalen van het vetgehalte kan op verschillende methodes gebeuren, wat kan leiden tot verschillende resultaten.

Zowel het WHO-referentielaboratorium als de VUB extraheerden de volledige vetfractie uit het volledige staalvolume. Met deze vetfractie werd het vetgehalte van de stalen bepaald en de fractie werd ook gebruikt voor de verdere analyse van de polluenten. De methode waarmee het vetgehalte bepaald werd, is verschillend in beide laboratoria (VUB en WHO-laboratorium). De verkregen vetgehalten verschillen 20% (zie tabel 7).

Bij de analysemethode gebruikt door het laboratorium van UA wordt het vet aanwezig in het staal vernietigd om zo de polluenten vrij te zetten in de waterige melkfase. Het vet kan hierbij niet gerecupereerd worden om het vetgehalte van de stalen te bepalen. Daarom werd voorafgaand aan de chemische analyse 1 mL staal apart gehouden voor de bepaling van het vetgehalte. De verkregen vetpercentages zijn echter meer dan de helft lager dan deze die bepaald werden door VUB en het WHO-referentielaboratorium (tabel 7). Bovendien werd geen correlatie gevonden tussen de vetgehalten van de individuele stalen bepaald door UA en de door UA gemeten pollutiegehalten in deze stalen. Er werd wel een correlatie gevonden tussen de gemeten pollutiegehalten (van VUB en UA) en de individuele vetgehalten van VUB. Daarom werd voor

verdere verwerking van de resultaten enkel rekening gehouden met de individuele vetgehalten bepaald door VUB.

### 4.2.1. INDIVIDUELE STALEN

De analyseresultaten van de individuele moedermelkstalen zijn weergegeven in tabel 5 en tabel 6. Het geometrisch gemiddelde en 95% betrouwbaarheidsinterval werden enkel berekend voor de polluenten waarvoor meer dan 50% van de individuele stalen boven de LOQ lag. Voor de berekening van het geometrisch gemiddelde worden waarden onder de LOQ vervangen door de helft van de LOQ.

Op basis van de meetresultaten van de individuele PCB's werden ook som 3 merker PCB's (PCB138 + PCB153 + PCB180), som 6 merker PCB's (PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB138 + PCB153 + PCB180) en som 7 merker PCB's (PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB118 + PCB138 + PCB153 + PCB180) berekend voor alle individuele stalen. Deze somparameters tellen de gemeten concentraties van de afzonderlijke PCB's op, waarbij waarden onder de LOQ als '0' werden beschouwd. Dit om vergelijking met de Belgische WHO-resultaten mogelijk te maken.

De perfluorverbindingen zijn niet vetoplosbaar en de meetresultaten worden dan ook uitgedrukt per volume-eenheid. De overige gemeten polluenten zijn wel vetoplosbaar en stapelen zich op in lichaamsvetten. Deze polluenten worden meestal in de vetfractie gemeten en worden in de literatuur meestal uitgedrukt per gram vet in plaats van per volume-eenheid. De meetmethode toegepast voor de analyse van de afzonderlijke PCB's, de organochloorpesticiden en de vlamvertragers meet deze polluenten echter in het volledige volume van het staal, na afbreken van de aanwezige vetten. Daardoor worden deze meetresultaten oorspronkelijk uitgedrukt per volume-eenheid (tabel 5). Het vetgehalte van de stalen werd afzonderlijk bepaald en kan gebruikt worden voor de omrekening per gram vet. Door problemen met de vetbepaling bij het analyselaboratorium van de UA, werd voor de omrekening van de gemeten concentraties per gram vet gebruik gemaakt van de individuele vetgehalten bepaald door het analyselaboratorium van de VUB. De concentraties van de vetoplosbare polluenten, uitgedrukt per gram vet, zijn weergegeven in tabel 6.

De Calux-assay wordt uitgevoerd met de vetfractie van de stalen en de resultaten van deze assay (PCDD/F's en dioxineachtige PCB's) worden uitgedrukt in pg BEQ (biochemische equivalenten)/g vet (tabel 6).

Waren meetbaar in alle stalen:

- Perfluorverbindingen: PFOS, PFOA
- PCB's: PCB118, PCB138, PCB153, PCB170, PCB180
- Pesticiden: HCB, p,p'-DDE, oxychlordan,  $\beta$ -HCH
- Dioxineachtige stoffen: dioxineachtige PCB's, dioxines en furanen

Waren meetbaar in meer dan 50% van de stalen:

- PCB's: PCB74, PCB99, PCB105, PCB156, PCB183, PCB187
- Pesticiden: p,p'-DDT, transnonachlor
- Vlamvertragers: BDE47, BDE99, BDE100, BDE153, BDE154, BDE209

Waren meetbaar in minder dan 50% van de stalen:

- Perfluorverbindingen: PFNA, PFHXS
- PCB's: PCB28, PCB101, PCB128

- Pesticiden: p,p'-DDD,  $\gamma$ -HCH
- Vlamvertragers: BDE28, BDE183

Waren niet meetbaar in de onderzochte stalen:

- Perfluorverbindingen: PFDA, PFUnA, PFHpS
- PCB's: PCB31, PCB52, PCB95, PCB149
- Pesticiden: trans-chlordaan, cis-chlordaan,  $\alpha$ -HCH

tabel 5: overzicht gemeten pollutanten in de individuele moedermelkstalen uitgedrukt per mL

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ	% > LOQ
Vetgehalte (%)	84	4,02	3,7-4,4	1,02	2,3	3,3	4,4	5,3	6,06	7,9		
Perfluorverbindingen (ng/mL)												
PFOS	40	0,104	0,086-0,126	0,036	0,050	0,074	0,097	0,140	0,225	0,494	0,01	100
PFOA	40	0,072	0,060-0,087	0,016	0,041	0,055	0,074	0,099	0,149	0,212	0,01	100
PFNA	40			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,014	0,022	0,042	0,01	42,5
PFHXS	40			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,021	0,098	0,01	20
PFDA	40			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,01	0
PFUnA	40			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,01	0
PFHpS	40			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,01	0
PCB's (ng/mL)												
PCB 28	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,033	0,050	0,153	0,02	41,7
PCB 31	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0
PCB 52	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0
PCB 74	84	0,055	0,048-0,064	0,015	0,015	0,043	0,060	0,084	0,115	0,272	0,03	88,1
PCB 95	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
PCB 99	84	0,083	0,072-0,095	0,010	0,042	0,058	0,087	0,124	0,190	0,287	0,02	97,6
PCB 101	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0,046	0,02	21,4
PCB 105	84	0,028	0,024-0,032	0,010	0,010	0,010	0,032	0,046	0,068	0,133	0,02	73,8
PCB 118	84	0,141	0,123-0,161	0,022	0,058	0,103	0,150	0,214	0,298	0,532	0,02	100
PCB 128	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0,046	0,072	0,02	32,1
PCB 138	84	0,519	0,451-0,597	0,063	0,213	0,377	0,559	0,798	1,122	2,170	0,02	100
PCB 149	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
PCB 153	84	0,659	0,570-0,761	0,077	0,265	0,450	0,697	0,996	1,483	3,234	0,02	100
PCB 156	84	0,052	0,045-0,061	0,010	0,022	0,038	0,059	0,080	0,118	0,285	0,02	91,7
PCB 170	84	0,204	175,628-0,237	0,024	0,079	0,130	0,233	0,335	0,419	1,177	0,02	100
PCB 180	84	0,345	0,296-0,401	0,036	0,139	0,225	0,387	0,533	0,746	2,049	0,02	100

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ	% > LOQ
PCB 183	84	0,053	0,045-0,062	0,010	0,020	0,039	0,056	0,084	0,133	0,228	0,02	90,48
PCB 187	84	0,097	0,082-0,114	0,010	0,040	0,072	0,100	0,160	0,211	0,639	0,02	96,43
Som 3 merker PCB's <sup>1</sup>	84	1,527	1,323-1,763	0,176	0,605	1,072	1,605	2,337	3,471	6,776		100
Som 6 merker PCB's <sup>2</sup>	84	1,550	1,343-1,788	0,176	0,626	1,072	1,621	2,348	3,511	6,819		100
Som 7 merker PCB's <sup>3</sup>	84	1,695	1,471-1,953	0,198	0,705	1,213	1,794	2,575	3,855	7,151		100
HCB (ng/mL)	84	0,246	0,219-0,275	0,045	0,117	0,175	0,252	0,369	0,447	0,653	0,02	100
DDT groep (ng/mL)												
P,p'-DDD	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,168	0,05	7,1
P,p'-DDE	84	2,353	1,952-2,835	0,274	0,732	1,421	2,271	4,536	7,539	15,363	0,05	100
P,p'-DDT	84	0,103	0,081-0,132	0,025	0,025	0,025	0,103	0,204	0,584	1,086	0,05	72,6
Chlordaan groep (ng/mL)												
Trans-chlordaan	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
Cis-chlordaan	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
Oxychlordaan	84	0,107	0,094-0,122	0,024	0,053	0,076	0,110	0,162	0,228	0,426	0,02	100
Trans-nonachlor (ng/mL)	84	0,059	0,051-0,068	0,010	0,023	0,043	0,061	0,089	0,125	0,235	0,02	95,2
HCH groep (ng/mL)												
α-HCH	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,01	0
β-HCH	84	0,0250	0,222-0,282	0,069	0,120	0,178	0,256	0,332	0,541	1,069	0,02	100
γ-HCH	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,015	0,033	0,146	0,01	26,2
PBDE's (pg/mL)												
BDE28	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2	14	2	14,3
BDE47	84	7,4	5,899-9,283	1,0	2,0	4,0	7,0	11,5	32,0	313,0	2	97,6
BDE99	84	2,466	2,029-2,997	1,0	1,0	1,0	2,0	4,0	8,0	27,0	2	63,1
BDE100	84	2,435	1,991-2,979	1,0	1,0	1,0	2,0	4,0	10,0	29,0	2	60,7

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ	% > LOQ
BDE154	84	2,939	2,524-3,423	1,0	1,0	2,0	3,0	4,0	7,0	13,0	2	79,8
BDE153	84	11,497	9,720-13,598	1,0	5,0	8,0	12,0	17,5	29,0	77,0	2	97,6
BDE183	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5	13	3	15,5
BDE209	84	25,176	20,504-30,913	10,0	10,0	10,0	22,5	49,0	97,0	323,0	20	57,14

<sup>1</sup> som 3 merker PCB's = PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>2</sup> som 6 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>3</sup> som 7 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB118 + PCB138 + PCB153 + PCB180

tabel 6: overzicht gemeten pollutenten in de individuele moedermelkstalen uitgedrukt in ng per gram vet

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ (ng/mL)	% > LOQ
Vetgehalte (%)	84	4,02	3,7-4,4	1,02	2,3	3,3	4,4	5,3	6,06	7,9		
PCB's												
PCB 28	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,690	1,161	4,688	0,02	41,7
PCB 31	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0
PCB 52	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,025	0
PCB 74	84	1,4	1,2-1,6	0,3	0,7	1,1	1,5	2	2,5	4,6	0,03	88,1
PCB 95	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
PCB 99	84	2,1	1,8-2,3	0,4	1,2	1,5	2,1	2,8	3,9	11,5	0,02	97,6
PCB 101	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,6	1,6	0,02	21,4
PCB 105	84	0,7	0,6-0,8	0,2	0,2	0,5	0,7	1,1	1,6	4,2	0,02	73,8
PCB 118	84	3,5	3,1-3,9	0,8	1,7	2,5	3,7	4,8	6,7	19,4	0,02	100
PCB 128	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,7	0,9	1,5	0,02	32,1
PCB 138	84	12,9	11,5-14,5	2,4	6,7	9,7	13,5	19,1	23	46,0	0,02	100
PCB 149	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
PCB 153	84	16,4	14,6-18,5	2,9	8,1	12	16,8	24,1	30,9	60,1	0,02	100
PCB 156	84	1,3	1,2-1,5	0,2	0,7	1	1,4	1,9	2,5	4,2	0,02	91,7

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ (ng/mL)	% > LOQ
PCB 170	84	5,1	4,5-5,8	0,9	2,4	3,6	5,2	7,5	9,9	28,1	0,02	100
PCB 180	84	8,6	7,5-9,8	1,3	4,3	6,3	8,8	12,5	17,0	43	0,02	100
PCB 183	84	1,3	1,1-1,5	0,2	0,6	1	1,3	2	2,9	6,7	0,02	90,48
PCB 187	84	2,4	2,1-2,8	0,4	1,1	1,7	2,5	3,4	5,6	10,4	0,02	96,43
Som 3 merker PCB's <sup>1</sup>	84	38,0	33,7-42,8	6,6	18,5	28,0	38,3	54,4	72,4	149,0		100
Som 6 merker PCB's <sup>2</sup>	84	38,6	34,2-43,4	6,6	20,2	28,4	39,7	55,4	73,0	149,0		100
Som 7 merker PCB's <sup>3</sup>	84	42,2	37,5-47,5	7,4	22,7	31,0	44,0	60,1	79,4	156,5		100
HCB	84	6,1	5,6-6,7	1,7	3,6	4,6	6,4	7,6	9,6	22,9	0,02	100
DDT groep												
P,p'-DDD	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3,8	0,05	7,1
P,p'-DDE	84	58,6	49,7-69	10,2	23,3	34,7	56,9	94,2	151,5	330,3	0,05	100
P,p'-DDT	84	2,6	2,0-3,2	0,4	0,5	1,3	2,6	4,8	10,9	35,3	0,05	72,6
Chlordaan groep												
Trans-chlordaan	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
Cis-chlordaan	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,02	0
Oxychlordaan	84	2,7	2,4-3	0,9	1,3	2,0	2,8	3,6	4,9	7,2	0,02	100
Trans-nonachlor	84	1,5	1,3-1,7	0,2	0,7	1,1	1,4	2,1	2,8	7,2	0,02	95,2
HCH groep												
α-HCH	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,01	0
β-HCH	84	6,2	5,6-7	2	3,5	4,6	6,1	7,8	11,4	32,5	0,02	100
γ-HCH	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,3	0,8	2,5	0,01	26,2
PBDE's												
BDE28	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,071	0,257	2	14,3
BDE47	84	0,184	0,151-0,224	0,035	0,072	0,109	0,164	0,248	0,655	5,745	2	97,6
BDE99	84	0,061	0,052-0,073	0,018	0,024	0,034	0,059	0,094	0,156	0,537	2	63,1
BDE100	84	0,061	0,050-0,073	0,014	0,023	0,031	0,058	0,091	0,209	0,623	2	60,7

Polluent	N	Geometrisch gemiddelde	95% BI	Min.	P10	P25	mediaan	P75	P90	Max.	LOQ (ng/mL)	% > LOQ
BDE154	84	0,073	0,064-0,084	0,018	0,031	0,054	0,071	0,112	0,147	0,392	2	79,8
BDE153	84	0,286	0,248-0,329	0,037	0,139	0,215	0,285	0,399	0,569	1,770	2	97,6
BDE183	84			<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,105	0,392	3	15,5
BDE209	84	0,627	0,524-0,749	0,171	0,220	0,305	0,650	1,116	1,835	4,906	20	57,14
Dioxineachtige stoffen (pg BEQ/g vet)												
DL-PCB's	84	1,731	1,571-1,908	0,6	0,95	1,325	1,705	2,23	2,89	8,06	0,69	100
PCDD/F's	84	10,352	9,395-11,406	4,09	6,09	7,21	10,085	13,845	18,61	32,68	1,15	100

<sup>1</sup> som 3 merker PCB's = PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>2</sup> som 6 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>3</sup> som 7 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB118 + PCB138 + PCB153 + PCB180

## 4.2.2. MENGSTALEN

Onderstaande tabel 7 vergelijkt de gemeten pollutieconcentraties in het mengstaal geanalyseerd door het WHO-referentielaboratorium met deze geanalyseerd door de Vlaamse laboratoria. Om de vergelijking met de resultaten van UA mogelijk te maken, werden de door het WHO-referentielaboratorium gerapporteerde concentraties in ng/g vet omgerekend naar concentraties uitgedrukt in ng/mL, gebruikmakend van 3,5% vetgehalte. Het vetgehalte bepaald door het laboratorium van UA wordt hier niet vermeld omwille van de hoger vermelde problemen bij deze vetbepaling. De resultaten van het analyselaboratorium van UA werden omgerekend per gram vet gebruikmakend van het vetpercentage dat door het analyselaboratorium van VUB bepaald werd. De pollutieconcentraties gemeten in het mengstaal door UA liggen gemiddeld 17% lager dan deze gemeten door het WHO-laboratorium, uitgedrukt in pg/mL. In internationale ringtesten wordt een verschil tot 20% als excellent beschouwd (AMAP Ringtest 2010). Met de Caluxassay wordt voor dioxineachtige PCB's een lagere en voor PCDD/F's een hogere waarde bekomen dan met de chemische metingen door het WHO-referentielaboratorium.

tabel 7: pollutie gemeten in het mengstaal door de Vlaamse laboratoria en het WHO-referentielaboratorium.

Polluent	UA (pg/mL) <sup>a</sup>	UA (ng/g vet) <sup>b</sup>	VUB (pg BEQ/g vet)	WHO (pg/mL) <sup>b</sup>	WHO (ng/g vet) <sup>a</sup>	Oslo (ng/mL)
Vetgehalte			4,4%	3,5%	3,5%	-
PCB's						
PCB 28	24	0,55		31	0,88	
PCB 52				8	0,23	
PCB 74	88	2,00				
PCB 99	123	2,80				
PCB 101	nd	nd		14	0,39	
PCB 128	nd	nd				
PCB 138	765	17,39		656	18,74	
PCB 153	986	22,41		1148	32,8	
PCB 170	331	7,52				
PCB 180	532	12,09		602	17,21	
PCB 183	109	2,48				
PCB 187	146	3,32				
Dioxineachtige stoffen						
PCB 105	49	1,11		54	1,53	
PCB 114				11	0,30	
PCB 118	214	4,86		233	6,65	
PCB 123				2	0,07	
PCB 156	77	1,75		109	3,12	
PCB157				20	0,57	
PCB 167				35	0,99	
PCB 189				11	0,32	

Polluent	UA (pg/mL) <sup>a</sup>	UA (ng/g vet) <sup>b</sup>	VUB (pg BEQ/g vet)	WHO (pg/mL) <sup>b</sup>	WHO (ng/g vet) <sup>a</sup>	Oslo (ng/mL)
Mono-ortho PCB*				100	2,86	
PCB 77				0,1	0,003	
PCB 81				0,035	0,001	
PCB 126				1	0,028	
PCB 169				0,7	0,019	
Non-ortho PCB				103	2,94*	
DL-PCB			2,17	203	5,80*	
PBDD/F's			11,09	294	8,41*	
HCB	312	7,09		336	9,6	
DDT groep						
som				6843	195,5	
P,p'-DDD	nd	nd		133	3,8	
P,p'-DDE	4370	99,32		3660	161,7	
P,p'-DDT	231	5,25		385	11,0	
Chlordaan groep						
som				189	5,4	
Trans-chlordaan	nd	nd			nd	
Cis-chlordaan	nd	nd			nd	
Oxychlordaan	140	3,18		196	5,6	
Trans-nonachlor	82	1,86		116	3,3	
HCH groep						
α-HCH	nd	nd			nd	
β-HCH	249	5,66		312	8,9	
γ-HCH	nd	nd			nd	
PBDE's						
BDE28				2	0,045	
BDE47	19	0,43		23	0,668	
BDE99	5	0,11		6	0,161	
BDE100	5	0,11		5	0,155	
BDE154	5	0,11		0,6	0,018	
BDE153	23	0,52		16	0,468	
BDE183				2	0,043	
BDE209	37	0,84		-	-	
Perfluorverbindingen						
PFOS						0,12
PFOA						0,066

\* Uitgedrukt in pg WHO-TEQ/g vet

<sup>a</sup> originele gegevens

<sup>b</sup> omgerekende gegevens (met vetgehalte 3,5% voor de WHO-resultaten en vetgehalte 4,4% voor de UA-resultaten)

<sup>1</sup> som 3 merker PCB's = PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>2</sup> som 6 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB138 + PCB153 + PCB180

<sup>3</sup> som 7 merker PCB's = PCB28 + PCB52 + PCB101 + PCB118 + PCB138 + PCB153 + PCB180

### 4.3. VERGELIJKING MET WHO-MOEDERMELKCAMPAGNE 2006

Bij de vergelijking van het Belgische moedermelk mengmonster in de 4<sup>de</sup> WHO moedermelkcampagne (2006) met het mengstaal van het landelijke aandachtsgebied in de huidige studie (2009-2010) gemeten door het WHO-referentielaboratorium, wordt zoals eerder beschreven rekening gehouden met de biologische en technische variatie. Volgens het WHO-referentielaboratorium ligt de technische variatie voor alle polluenten in de range van 20%. Exacte cijfers per polluent werden niet bekomen. De biologische variatie werd geschat met de variatiecoëfficiënt die berekend wordt uit de standaardafwijking en de gemiddelde concentratie van de polluent.

Voor een bepaalde polluent is het verschil tussen beide mengstalen pas betekenisvol indien het verschil groter is dan de som van de variaties (biologische en technische variatie) voor die polluent. Niet voor alle polluenten is het mogelijk de biologische variatie te bepalen omdat niet alle polluenten gemeten zijn in de individuele stalen.

Zonder rekening te houden met de variatie, worden volgende trends waargenomen:

- hogere waarden in de landelijke regio voor dieldrin en duidelijk hogere waarden voor transnonachlor, som van HBCD en som van DDT en DDT metabolieten.
- Lagere waarden in de landelijke regio voor: som heptachloorcomponenten, som chlordancomponenten, HCB, beta-HCH, alle merker-PCB's, mono- en ortho PCB's, dioxinen/furanen en alle polygebromeerde difenylethers.

De technische variatie bedraagt voor alle polluenten ongeveer 20%, de biologische variatie was niet voor alle polluenten beschikbaar, enkel voor die polluenten die ook in de individuele stalen werden gemeten. Rekeninghoudend met de beschikbare variatie worden volgende trends waargenomen voor het landelijke aandachtsgebied:

- 94% hogere waarden voor transnonachlor (geen schatting van de biologische variatie voor de WHO-campagne van 2006)
- 122% hogere waarden voor gebromeerde furaan 2,3,4,7,8-PeBDF (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes)
- 153% hogere waarden voor som HBCD (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes). Gezien het grote verschil, kan wel gesteld worden dat dit een betekenisvolle trend is.
- 41% lagere waarden voor BDE15 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes).
- 68% lagere waarden voor BDE85 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes).

Analyses in een mengstaal zijn nuttig om snel een algemeen beeld te kunnen vormen van de blootstelling van een populatie. Indien het de bedoeling is deze blootstelling te vergelijken met andere studies, moet worden rekening gehouden met de technische variatie eigen aan de meting en met de biologische variatie eigen aan de onderzochte studiepopulatie. Aan de hand van een schatting van de variatie kan worden nagegaan of een waargenomen verschil betekenisvol is. Om deze variatie goed te kunnen inschatten, zijn individuele metingen noodzakelijk.

tabel 8: Vergelijking van pollutieconcentraties in het mengstaal van het landelijke aandachtsgebied in 2009-2010 met het mengstaal van de Belgische studiebevolking uit de WHO-moedermelkcampagne van 2010. Beide stalen werden geanalyseerd door het WHO-referentielaboratorium in Freiburg. De concentraties zijn uitgedrukt in ng/g vet, tenzij anders vermeld.

Polluent	Landelijk 2009-2010 <sup>a</sup>				België 2006 <sup>b</sup>				% verschil 2009/10-2006
	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	
Aldrin	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Dieldrin	7,2	± 20%		-	6,7	± 20%		-	7,5%
Endrin groep									
Som	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Endrin	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Endrin keton	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Heptachloorgroep									
som	4,5	± 20%		-	5,3	± 20%		-	15,1%
Heptachloor	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Heptachloor-epoxide cis	4,7	± 20%		-	5,6	± 20%		-	16,1%
Heptachloor-epoxide trans	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Chlordaan groep									
Som	5,4	± 20%		-	7,8	± 20%		-	30,8%
α-chlordaan	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
γ-chlordaan	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Oxy-chlordaan	5,6	± 20%	49,4%	69%	8,0	± 20%		-	30%
Transnonachlor	3,3	± 20%	55,0%	75%	1,7	± 20%		-	94%
DDT groep									
som	195,5	± 20%		-	156,3	± 20%		-	25,1%
O,p'-DDD	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
P,p'-DDD	3,8	± 20%		-	nd	± 20%		-	
O,p'-DDE	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	

Polluent	Landelijk 2009-2010 <sup>a</sup>				België 2006 <sup>b</sup>				% verschil 2009/10- 2006
	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	
P,p'-DDE	161,7	± 20%	75,3%	95%	132,3	± 20%	58,2%	78%	22,2%
O,p'-DDT	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
P,p'-DDT	11,0	± 20%	107,4%	127%	8,8	± 20%		-	25%
HCB	9,6	± 20%	42,2%	62%	15,0	± 20%	50,1%	70%	36%
HCH groep									
α-HCH	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
β-HCH	8,9	± 20%	52,1%	72%	12,0	± 20%		-	25,8%
γ-HCH	nd	± 20%		-	0,7	± 20%		-	
Parlar (toxafeen) groep									
som	2,2	± 20%		-	2,3	± 20%		-	4,3%
Parlar 26	0,5	± 20%		-	0,7	± 20%		-	28,6%
Parlar 50	1,8	± 20%		-	1,5	± 20%		-	20%
Parlar 62	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Mirex	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
S-421	nd	± 20%		-	nd	± 20%		-	
Merker PCB's									
Som 6 merkers (zonder PCB118)	70,2	± 20%	54,9%	75%	80,05	± 20%	39,1%	59%	12,3%
PCB28	0,88	± 20%		-	1,02	± 20%		-	13,7%
PCB52	0,23	± 20%		-	0,36	± 20%		-	36,1%
PCB101	0,39	± 20%		-	0,50	± 20%		-	22%
PCB138	18,74	± 20%	53,6%	74%	21,9	± 20%	41,0%	61%	14,4%
PCB153	32,8	± 20%	54,8%	75%	38,4	± 20%	37,3%	57%	14,6%
PCB180	17,21	± 20%	59,7%	80%	18,4	± 20%	46,0%	66%	6,5%
PCDD/F's (pg WHO <sub>1998</sub> -TEQ/g vet)*	8,41	± 20%	44,7%	65%	10,31	± 20%		-	18,4%

Polluent	Landelijk 2009-2010 <sup>a</sup>				België 2006 <sup>b</sup>				% verschil 2009/10- 2006
	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	
Mono-ortho PCB's (pg WHO <sub>1998</sub> -TEQ/g vet)	2,86	± 20%		-	3,59	± 20%		-	20,3%
Non-ortho PCB's (pg WHO <sub>1998</sub> - TEQ/g vet)	2,94	± 20%		-	3,43	± 20%		-	14,3%
PCDD/F's + PCB's (pg WHO <sub>1998</sub> -TEQ/g vet)*	14,21	± 20%		-	17,33	± 20%		-	18%
Polygebromeerde dioxines (pg/g vet)									
2,3,7,8-TBDD	0,05	± 20%		-	<0,01	± 20%		-	
1,2,3,7,8-PeBDD	<0,07	± 20%		-	<0,03	± 20%		-	
1,2,3,4,7,8/1,2,3,6,7,8- HxBDD	<0,07	± 20%		-	<0,07	± 20%		-	
1,2,3,7,8,9-HxBDD	<0,04	± 20%		-	<0,05	± 20%		-	
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	-				<0,3	± 20%		-	
OBDD	-				3,7	± 20%		-	
Polygebromeerde furanen (pg/g vet)									
2,3,7,8-TBDF	0,7	± 20%		-	0,81	± 20%		-	13,6%
1,2,3,7,8-PeBDF	0,2	± 20%		-	0,24	± 20%		-	16,7%
2,3,4,7,8-PeBDF	0,4	± 20%		-	0,18	± 20%		-	122,2%
1,2,3,4,7,8/1,2,3,6,7,8- HxBDF	<0,3	± 20%		-	<1,4	± 20%		-	
1,2,3,7,8,9-HxBDF	-				<0,7	± 20%		-	
2,3,4,6,7,8-HxBDF	-				<0,7	± 20%		-	
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	-				-	± 20%		-	
1,2,3,4,7,8,9-HpBDF	-				<0,3	± 20%		-	

Polluent	Landelijk 2009-2010 <sup>a</sup>				België 2006 <sup>b</sup>				% verschil 2009/10- 2006
	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	meetwaarde	Technische variatie	Biologische variatie	Som variatie	
OBDF	-				-				
Hexabromocyclododecaan (HBCD) groep (ng/g vet)									
som	3,8	± 20%		-	1,5	± 20%		-	153,3%
α-HBCD	3,20	± 20%		-	1,5	± 20%		-	113,3%
β-HBCD	0,05	± 20%		-	<0,08	± 20%		-	
γ-HBCD	0,55	± 20%		-	<0,08	± 20%		-	
Polygebromeerde diphenylethers (PBDE's)									
Som	1,595	± 20%		-	2,009	± 20%		-	20,6%
BDE 15	0,020	± 20%		-	0,034	± 20%		-	41,2%
BDE 17	<0,003	± 20%		-	<0,0019	± 20%		-	
BDE 28	0,045	± 20%		-	0,065	± 20%		-	30,7%
BDE 47	0,668	± 20%	90,9%	111%	0,893	± 20%		-	25,2%
BDE 66	<0,003	± 20%		-	<0,0045	± 20%		-	
BDE 85	0,006	± 20%		-	0,017	± 20%		-	64,7%
BDE 99	0,161	± 20%	77,4%	97%	0,224	± 20%		-	28,1%
BDE 100	0,155	± 20%	85,7%	106%	0,212	± 20%		-	26,9%
BDE 138	0,011	± 20%		-	<0,0017	± 20%		-	
BDE 153	0,468	± 20%		-	0,492	± 20%		-	4,9%
BDE 154	0,018	± 20%	61,4%	81%	0,021	± 20%		-	14,3%
BDE 183	0,043	± 20%		-	0,051	± 20%		-	15,7%
BDE 190	<0,012	± 20%		-	<0,0048	± 20%		-	

\*Mediumbound: resultaten onder de quantificatielimit werden op de helft van de quantificatielimit gezet.

<sup>a</sup> nd: niet detecteerbaar (<0,5 ng/g vet)

<sup>b</sup> nd: niet detecteerbaar (LOD = 0,25; LOQ = 0,5 voor pesticiden, LOQ = 0,01-0,04 voor merker PCB's, LOQ = 0,02-0,07 voor mono-ortho PCB's, LOQ = 1,4-7,5 voor non-ortho PCB's, LOQ = 0,01-0,07 voor dioxinen/furanen.)  
- niet geanalyseerd

De ratio pesticide/afbraakproduct geeft informatie over de tijdsperiode waarin de blootstelling heeft plaatsgevonden. Bij een ratio groter dan 1 is de hoeveelheid oorspronkelijk product groter dan de hoeveelheid afbraakproduct wat wijst op relatief recente blootstelling. Het tijdsinterval is afhankelijk van de halfwaardetijd van de pollutant. DDT wordt afgebroken tot DDE en DDE wordt omgezet in DDD. Oxychlordaan is een afbraakproduct van de chlordaanisomeren ( $\alpha$ - en  $\gamma$ -chlordaan) en van transnonachlor. De ratio's DDT/DDE en transnonachlor/oxychlordaan geven een indicatie van mogelijke recente blootstelling aan respectievelijk DDT en transnonachlor. De berekende DDT/DDE-ratio's zijn gelijk voor de huidige studiebevolking en de Belgische WHO-bevolking en duiden in beide gevallen op historische blootstelling. De berekende transnonachlor/oxychlordaan ratio's zijn in beide studiebevolkingen ook kleiner dan 1, wat ook wijst op historische blootstelling. De ratio is in de huidige studiebevolking wel hoger dan in de Belgische WHO-bevolking, wat een aanwijzing is dat de transnonachlor blootstelling van de deelnemers uit het landelijke aandachtsgebied relatief recentier is dan deze van de Belgische WHO-bevolking. DDT werd in België verboden voor alle toepassingen in 1976, transnonachlor werd voor alle toepassingen verboden in 1988.

*tabel 9: Ratio's pesticide/afbraakproduct voor DDT en transnonachlor voor de huidige studiebevolking en voor de Belgische studiebevolking van de WHO-moedermelkcampagne in 2006.*

	Landelijk 2009-2010	België 2006
DDT/DDE	0,07	0,07
Transnonachlor/oxychlordaan	0,59	0,21

Hexabromcyclododecaan (HBCD) behoort samen met de polygebromeerde difenylethers (PBDE's) en tetrabromobisfenol A (TBBPA) tot de meest gebruikte vlamvertragers om consumentenproducten minder brandbaar te maken. In 2003 besloot de EU om vanaf 1 juli 2006 het gebruik van PBDE's in producten uit te faseren, met uitzondering voor deca-BDE. De richtlijn zegt echter niets over het gebruik van andere broomhoudende vlamvertragers zoals TBBPA en HBCD, waardoor deze meer en meer gebruikt worden ter vervanging van de PBDE's. Deze maatregel lijkt ook zichtbaar te zijn in de resultaten van deze studie: de gehalten PBDE's liggen in de huidige studiebevolking lager dan in de Belgische WHO-bevolking van 2006 (5% tot 65%), maar de HBCD-concentratie is 153% hoger in het huidige mengstaal. Bij onvolledige verbranding van materialen die gebromeerde vlamvertragers bevatten, worden gebromeerde furanen gevormd. In het mengstaal van het landelijke aandachtsgebied werd een hogere concentratie aan 2,3,4,7,8-PeBDF gemeten dan in het mengstaal van de WHO-bevolking van 2006.

#### 4.4. HEREVALUETIE TEF-WAARDEN DOOR WHO IN 2005

De toxische en biologische effecten van dioxineachtige stoffen zoals dibenzo-p-dioxines, dibenzofuranen en dioxineachtige PCB's vinden plaats ter hoogte van de aryl hydrocarbon receptor of AhR-receptor. Om de toxiciteit van een complex congenere mengsel te kunnen inschatten, werd verondersteld dat de effecten additief zijn en wordt aan elke congener een toxische equivalentie factor (TEF) toegekend. Deze factor drukt de toxiciteit van de congener uit relatief ten opzichte van de meest toxische congener, 2,3,7,8-tetraCDD, die zelf TEF gelijk aan 1 heeft. Door de gemeten concentratie van de congenere te vermenigvuldigen met hun respectievelijke TEF-factoren, worden TEQ (toxische equivalenten)-waarden verkregen. De

Wereldgezondheidsorganisatie wil de TEF-waarden harmoniseren op internationaal niveau. Een eerste herevaluatie vond plaats in 1997 (van den Berg *et al.*, 1998) en een tweede in 2005 (van den Berg *et al.*, 2006). Het WHO 2005 TEF schema was voornamelijk bedoeld voor het inschatten van blootstelling via orale inname. Tot nog toe worden concentraties van dioxineachtige stoffen vooral gerapporteerd in WHO<sub>1998</sub>-TEQ-waarden. In de toekomst zal meer en meer gebruik worden gemaakt van WHO<sub>2005</sub>-TEQ-waarden.

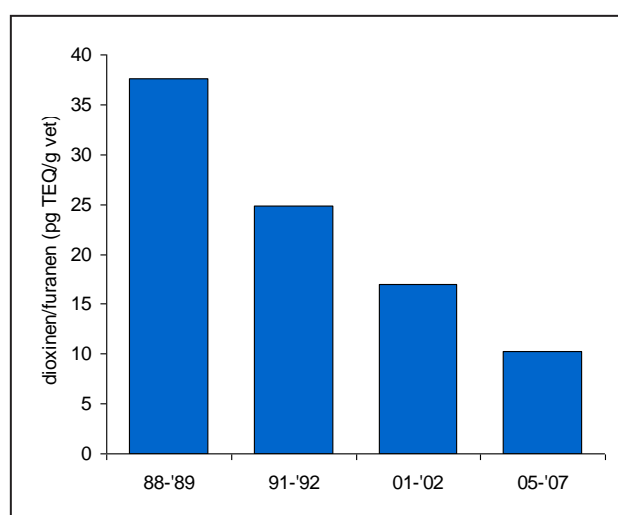
In tabel 10 worden de concentraties van de verschillende gemeten congenere in het mengstaal omgerekend naar WHO<sub>1998</sub>-TEQ en naar WHO<sub>2005</sub>-TEQ. De totale WHO<sub>2005</sub>-TEQ waarde (dioxines/furanen + dioxineachtige PCB's) bedraagt 10,724 pg/g vet, met een bijdrage van de mono-ortho PCB's van 20%, de non-ortho PCB's van 21% en van de dioxines/furanen van 59%. De totale WHO<sub>1998</sub> TEQ-waarde (dioxines/furanen + dioxineachtige PCB's) is 14,260 pg/g vet en is voor 4% afkomstig van mono-ortho PCB's, voor 31% van non-ortho-PCB's en voor 65% van dioxines en furanen. Door gebruik te maken van de 2005 TEF-factoren daalt de totale TEQ-waarde met 25% vergeleken met de TEF-factoren van 1998, waarbij het aandeel van de dioxines/furanen en de non-ortho PCB's toeneemt en dat van de mono-ortho PCB's afneemt.

tabel 10: Analyseresultaten van de dioxineachtige PCB's, de dioxine- en furanencongeneren met omrekening naar pg TEQ/g vet, gebruikmakend van de TEF-waarden volgens WHO 1998 en WHO 2005.

	ng/g vet	pg WHO <sub>1998</sub> TEQ/g vet	pg WHO <sub>2005</sub> TEQ/g vet	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF
<b>Mono-ortho PCB's</b>					
Som	13,55	2,862	0,4065		
PCB 105	1,53	0,153	0,0459	0,0001	0,00003
PCB 114	0,3	0,150	0,009	0,0005	0,00003
PCB 118	6,65	0,665	0,1995	0,0001	0,00003
PCB 123	0,07	0,007	0,0021	0,0001	0,00003
PCB 156	3,12	1,560	0,0936	0,0005	0,00003
PCB 157	0,57	0,285	0,0171	0,0005	0,00003
PCB 167	0,99	0,0099	0,0297	0,00001	0,00003
PCB 189	0,32	0,032	0,0096	0,001	0,00003
<b>Non-ortho PCB's</b>					
Som	0,051	2,990	3,3706		
PCB 77	0,003	0,0003	0,0003	0,0001	0,0001
PCB 81	0,001	0,0001	0,0003	0,0001	0,0003
PCB 126	0,028	2,800	2,800	0,1	0,1
PCB 169	0,019	0,190	0,570	0,01	0,03
	pg/g vet	pg WHO <sub>1998</sub> TEQ/g vet	pg WHO <sub>2005</sub> TEQ/g vet	WHO 1998 TEF	WHO 2005 TEF
<b>Dioxinen</b>					
Som	56,12	4,255	4,263		
2,3,7,8-TCDD	0,94	0,940	0,940	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	2,4	2,400	2,400	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,15	0,115	0,115	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	6,18	0,618	0,618	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	1,19	0,119	0,119	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	5,96	0,0596	0,0596	0,01	0,01
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	38,3	0,004	0,0115	0,0001	0,0003
<b>Furanen</b>					
Som	14,07	4,153	2,684		
2,3,7,8-TCDF	0,45	0,045	0,045	0,1	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,25	0,0125	0,0075	0,05	0,03
2,3,4,7,8-PeCDF	7,32	3,660	2,196	0,5	0,3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1,74	0,174	0,174	0,1	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,67	0,167	0,167	0,1	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,73	0,073	0,073	0,1	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,06	0,006	0,006	0,1	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,45	0,0145	0,0145	0,01	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,07	0,0007	0,0007	0,01	0,01
1,2,3,4,6,7,8,9-OCDF	0,33	0,000033	0,000099	0,0001	0,0003
<b>som dioxinen + furanen</b>	<b>70,19</b>	<b>8,408</b>	<b>6,947</b>		
<b>Som dioxinen/furanen + PCB's</b>	<b>83,791</b>	<b>14,260</b>	<b>10,724</b>		

#### 4.5. VERGELIJKING MET REFERENTIEBIOMONITORING FLEHS II VAN HET STEUNPUNT M&G

De meest recente WHO referentiewaarden dateren van '05-'07. De Belgische moedermelkwaarden aan dioxinen/furanen daalden met ca. 40% in de periode van '01-'02 tot '05-'07 (figuur 3). In de eerste drie campagnes werden geen mengmonsters gemaakt van moedermelk verzameld over geheel België. Per campagne werden toen een 2 à 3-tal mengmonsters samengesteld, welke bestonden uit moedermelk van een aantal moeders afkomstig uit een 2 tot 3-tal regio's. In de 4<sup>de</sup> campagne werd een mengmonster gemaakt van 197 individuen uit Vlaanderen, Wallonië en Brussel (Colles *et al.*, 2008).



figuur 3: Gehalten aan dioxinen+furanen in Belgische moedermelk geanalyseerd in de vier opeenvolgende WHO-campagnes (uit: Colles *et al.*, 2008).

Gezien POP's concentraties in België en Vlaanderen een dalende trend vertonen, is het interessant om te vergelijken met meer recente data. Heel recent zijn in Vlaanderen POP's gemeten in navelstrengbloed in het kader van de FLEHSII campagne van het Steunpunt M&G. De navelstrengbloedstalen zijn gecollecteerd in de periode 2008-2009. De navelstrengbloedwaarden van die campagne kunnen **via toxicokinetische modellen** omgerekend worden naar gehalten in moedermelk. Het gaat hier dan ook over een **theoretische benadering**. Binnen het FP7-EU project 'Environmental Health Risks in European Birth Cohorts (ENRIECO)' werd voor twee POP's een conversiefactor afgeleid op basis van gegevens uit enkele Europese geboortecohorten (persoonlijke communicatie):

$$[PCB_{153}] \text{ serum/plasma navelstrengbloed (ng/L)} = 5 * 0.20 * [PCB_{153}] \text{ moedermelk (ng/g vet)}$$

$$[p,p'\text{-DDE}] \text{ serum/plasma navelstrengbloed (ng/L)} = 5 * 0.23 * [p,p'\text{-DDE}] \text{ moedermelk (ng/g vet)}$$

Op basis van deze vergelijkingen volgt dat de moedermelkgehalten van het landelijke aandachtsgebied t.o.v. de geschatte Vlaamse referentiewaarden (voor ca. dezelfde tijdsperiode van staalname) respectievelijk lager liggen voor PCB 153 en hoger voor p,p'-DDE (tabel 11). Dit werd ook geconcludeerd op basis van de vergelijking met de WHO(2006) Belgische moedermelkwaarden.

tabel 11: Referentiewaarden voor PCB153 en p,p'-DDE in navelstrengbloed van het Steunpunt M&G en daaruit theoretisch geschatte overeenkomstige moedermelkgehalten, vergeleken met gemeten concentraties van deze pollutanten in moedermelk van de huidige studie en van de WHO-campagne van 2006.

component	Navelstrengbloed (ng/L)	Moedermelk (ng/g vet)		
		FLEHSII berekende ref. waarde (‘08-‘09)	gemeten in landelijk (‘09-‘10)	WHO België (‘06)
PCB 153	FLEHS II ref. waarde* (‘08-‘09) 54	54	<b>33</b>	38
p,p'-DDE	160	139	<b>162</b>	132

\* geometrisch gemiddelde. De berekende waarden (op basis van farmaokinetische modellen) werden afgerond zijn afgerond

#### 4.6. VERGELIJKING MET BUITENLANDSE WAARDEN

##### 4.6.1. KLASSIEKE METINGEN IN WHO MOEDERMELKCAMPAGNES

Sinds halfweg de tachtiger jaren organiseert de WHO op regelmatige tijdstippen meetcampagnes in moedermelk geïncollateerd in diverse landen van de wereld. Die meetwaarden gelden als de beste vergelijkingswaarden voor internationale opvolging en evaluatie van humane POP's gehalten. De resultaten van de 3<sup>de</sup> (2000-2003) en 4<sup>de</sup> (2005-2007) ronde staan samengevat in tabel 12, welke integraal is overgenomen uit Malisch *et al.* (2008). Volgende componenten zijn niet weergegeven in de tabel: aldrin wordt gemetaboliseerd tot dieldrin en wordt derhalve niet gemeten in humane matrices; ook endrin, endrin ketone en mirex waren niet detecteerbaar. Voor Europa waren cijfers beschikbaar voor 19 landen (3<sup>de</sup> en 4<sup>de</sup> ronde samen): België, Bulgarije, Kroatië, Cyprus, Tsjechië, Finland, Duitsland, Hongarije, Ierland, Luxemburg, Nederland, Noorwegen, Roemenië, Rusland, Slovakije, Spanje, Zweden en Oekraïne.

Het gehalte aan dioxinen/furanen (PCDD/F) in de landelijke regio (8.4 pg TEQ/g vet) is quasi gelijk aan het Europees gemiddelde (8.9 pg TEQ/g vet). Daarnaast zijn er stoffen die in de landelijke regio duidelijk boven het Europees gemiddelde liggen: dieldrin en som heptachloor. De componenten waarvan de gehalten in de landelijke regio relatief lager liggen zijn: som chlordan, transnanchlor, HCB, som toxafeen en de dioxineachtige PCB's (mono- en non-ortho PCB's = 5.8 pg TEQ/ g vet in landelijke regio vs. het Europees gemiddelde van 9.4 pg TEQ/g vet).

Er werden tot op heden geen resultaten voor de 4<sup>de</sup> WHO-moedermelkcampagne terug gevonden van individuele Europese landen.

tabel 12: Overzicht van de waarden van POPs in moedermelk gemeten door de WHO in de 3<sup>de</sup> (2000-2003) en 4<sup>de</sup> moedermelkcampagne(2005-2007). De POP-gehaltenes voor de regio's werden berekend uit de mediaanwaarden van de landen indien 2 of meer mengstalen beschikbaar waren. (tabel overgenomen uit: Malisch et al., 2008)

Regio		aantal landen	WHO PCDD/F TEQ pg/g vet	WHO PCB-TEQ pg/g vet	diel-drin ng/g vet	som-chor-daan groep ng/g vet	som DDT ng/g vet	HCB ng/g vet	som hepta-chloor ng/g vet	som toxa-feen ng/g vet
<b>Afrika</b>	Med	2	14,3	4,8	1,4	9,8	848	3,5		nn
	Min	2	6,2	4,2	1,4	3,7	396	3,2	nn	nn
	Max	2	22,3	5,5	1,4	15,9	1300	3,8	3,5	nn
<b>Azië</b>	Med	2	6,3	3,6	1,8	18,8	1713	13,9		nn
	Min	2	3,9	2,4	1,5	12,3	1247	3,3	nn	nn
	Max	2	8,7	4,7	2,0	25,3	2180	24,5	1,0	nn
<b>Australië, Nieuw-Zeeland, Pacific</b>	Med	5	3,9	2,3	2,2	3,2	740	3,4	nn	nn
	Min	5	2,8	1,3	1,6	2,3	189	3,1	nn	nn
	Max	5	6,9	3,9	3,8	3,7	1339	5,7	nn	1,4
<b>Carrib.,Centr./Z-Amerika</b>	Med	2	3,5	2,5	3,1	4,3	1629	3,7		nn
	Min	2	3,2	1,8	1,1	3,5	428	3,0	nn	nn
	Max	2	3,9	3,3	5,0	5,0	2830	4,4	1,1	nn
<b>Europa</b>	Med	19	8,9	9,4	3,6	9,3	324	17,8	1,9	3,7
	Min	19	4,4	2,1	1,3	1,3	29	2,8	0,5	1,3
	Max	19	18,3	20,0	8,0	26,4	1182	76,0	12,0	17,0
<b>N-Amerika</b>	(1 land)	1	7,2	4,6	5,3	30,1	217	6,6	4,4	nn

Med= mediaan, min= minimum, max = maximum, nn:

NB: aldrin, endrin, endrin ketone en mirex zijn niet opgenomen in de tabel, gezien deze niet detecteerbaar waren in geen enkel van de gemeten moedermelkmonsters.

#### 4.6.2. GEBROMEERDE VLAMVERTRAGERS

In het Belgische mengmonster bedroeg het totale gehalte HBCD 3,8 ng/g vet (mengstaal). Deze concentratie was duidelijk hoger (tabel 13) dan de HBCD-mediaanconcentratie aangetroffen in moedermelk van Canadese vrouwen (Ryan & Patry, 2002), van Zweedse vrouwen in 2002 – 2004 (Lignel et al., 2003; Lignell et al., 2005) en van Franse moeders in 2005 (Antignac et al., 2008). Hogere HBCD-concentraties werden waargenomen in Spaanse moedermelkstalen, genomen in 2006-2007 (Eljarrat et al., 2009).

De gehalten van de 7 meest voorkomende PBDE's (BDE 28, 47, 99, 100, 153, 154 en 183) lagen in de individuele moedermelkstalen van de huidige studie lager (tabel 14) dan in moedermelkstalen van Italië in 1998-2001 (Ingelido et al., 2007), van Frankrijk in 2005 (Antignac et al., 2008) en van Duitsland in 1992 en in 2002 (Fürst, 2006). Nog hogere waarden werden gemeten in moedermelkstalen van de Verenigde Staten en van Canada in 2003 (She et al., 2007). De

concentraties decaBDE (209) lagen in de moedermelkstalen van het landelijke aandachtsgebied (tabel 15) lager dan in moedermelkstalen van Frankrijk in 2005 (Antignac *et al.*, 2008), maar hoger dan in moedermelk van vrouwen uit de Verenigde Staten en Canada in 2003 (She *et al.*, 2007).

De mate van blootstelling aan vlamvertragers en het soort vlamvertragers waaraan mensen worden blootgesteld vertoont grote verschillen tussen landen en geografische regio's ten gevolge van verschillen in wetgeving en gebruik. Blootstelling aan PBDE's is in Amerika groter dan in Europa, maar de blootstelling aan decaBDE lijkt wel vergelijkbaar. Ook binnen Europa zijn verschillen merkbaar. De Belgische moedermelkstalen uit de huidige studie hebben lagere gehalten aan HBCD dan moedermelk van vrouwen uit Spanje, maar nog lagere concentraties werden waargenomen in Frankrijk en Zweden. Anderzijds liggen de gemeten PBDE-concentraties in moedermelk van Frankrijk, Duitsland en Italië wel hoger dan in de moedermelk uit de huidige studie. Dit kan te wijten zijn aan een verschillende blootstelling door een verschil in gebruik van vlamvertragers tussen deze landen. Gezien het tijdsverschil tussen de studies kan ook het vervangen van PBDE's door HBCD, ten gevolge van het verbod op gebruik van sommige PBDE's bijdragen tot een hogere blootstelling aan HBCD in de laatste jaren.

tabel 13: Gemeten concentraties HBCD (ng/g vet) in moedermelk

Land	Jaar	N	Leeftijd	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	3,8				
Canada		30		6,6	<b>1.3</b>	0	126	(a)
Zweden	'02-'03	30	30 (24-37)	0,42	<b>0.35</b>	0,16	1,5	(b)
	'04	29	28,9 (20,9-34,6)	0,58 (0,89)	<b>0.33</b>	0,14	4,36	(c)
Frankrijk	2005	23	34 (24-46)		<b>&lt;LOQ</b>	<LOQ	5,0	(d)
Spanje	'06-'07	33	-	47,0	<b>27,0</b>	3,0	188,0	(e)
Noorwegen	'93-'01	85				0,4	20	(f)
	2001	9				0,25	2,0	(g)

(a) Ryan & Patry, 2002; (b) Lignell *et al.*, 2003; (c) Lignell *et al.*, 2005; (d) Antignac *et al.*, 2008; (e) Eljarrat *et al.*, 2009; (f) Thomsen *et al.*, 2005; (g) Thomsen *et al.*, 2003.

tabel 14: Gemeten concentraties PBDE's in moedermelk. De som van de 7 meest voorkomende PBDE's (28, 47, 99, 100, 153, 154 en 183) wordt weergegeven in ng/g vet).

Land	Jaar	N	Leeftijd	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)		<b>0.637</b>	0,122	9,716	
Italië	'98-'00	1 pool (n=10)	31 (24-38)	2,751				(a)
	'98-'00	1 pool (n=13)	30 (21-38)	2,371				
	'99-'00	1 pool (n=6)	27 (21-29)	1,546				
	'00-'01	1 pool (n=10)	34 (28-40)	4,064				
Frankrijk	2005	23	34 (24-46)		<b>2,655</b>	1,388	11,626	(b)
US en Canada	2003	40	30,45 (±5,47)	93,04	<b>45,52</b>	5,051	518,59	(c)
Duitsland	1992	1 pool (n=300)		1,839				(d)
	2002	79		3,672	<b>2,668</b>	0,604	26,405	(d)

(a) Ingelido *et al.*, 2007; (b) Antignac *et al.*, 2008; (c) She *et al.*, 2007; (d) Fürst, 2006

tabel 15: Gemeten concentraties decaBDE (209) in moedermelk (ng/g vet)

Land	Jaar	N	Leeftijd	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	0,627	<b>0,650</b>	0,171	4,906	
Frankrijk	2005	23	34 (24-46)		<b>1,504</b>	0,390	6,796	(a)
US en Canada	2003	40	30,45 (±5,47)	0.800	<b>0,430</b>	0.048	4,260	(b)

(a) Antignac *et al.*, 2008; (b) She *et al.*, 2007

#### 4.6.3. GECHLOREERDE PESTICIDEN

##### → HCH

In de moedermelkstalen van moeders uit het landelijke aandachtsgebied kon enkel  $\beta$ -HCH goed worden waargenomen. De gemeten concentraties waren lager (tabel 16) dan de concentraties gemeten in moedermelk van Deense en Finse vrouwen in 1997-2001 (Shen *et al.*, 2008).

tabel 16: Gemeten HCH-concentraties (ng/g vet) in moedermelk

Land	Jaar	N	Leeftijd	Congeneer	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	$\alpha$ -HCH		<LOQ	<LOQ	<LOQ	
				$\beta$ -HCH	6,2	<b>6,1</b>	2,0	32,5	
				$\gamma$ -HCH		<LOQ	<LOQ	2,5	
Denemarken	'97-'01	65	30,6 (23,6-38,8)	$\alpha$ -HCH	0,26		0,05	3,45	(a)
				$\beta$ -HCH	16,85		5,97	66,23	
				$\gamma$ -HCH	0,65		0,23	3,34	
				$\delta$ -HCH	0,04		0,01	0,27	
Finland	'97-'01	65	28,7 (21,4-39,7)	$\alpha$ -HCH	0,16		0,04	0,77	(a)
				$\beta$ -HCH	10,93		2,74	30,89	
				$\gamma$ -HCH	0,40		0,08	4,05	
				$\delta$ -HCH	0,03		0,01	0,16	

(a) Shen *et al.*, 2008

##### → DDT, DDE en DDD

De gemeten concentraties p,p'-DDT en p,p'-DDE in de huidige studie zijn vergelijkbaar met de concentraties gemeten in moedermelk van Finse vrouwen in 1997-2001 (Shen *et al.*, 2008), maar lager dan de gehalten waargenomen in moedermelk van vrouwen uit Denemarken in 1997-2001 (Shen *et al.*, 2008) en uit Italië in 1998-2001 (Abballe *et al.*, 2008) en in colostrum van moeders uit Frankrijk in 2002-2005 (Brucker-Davis *et al.*, 2008).

tabel 17: Gemeten concentraties DDT, DDE en DDD (ng/g vet) in moedermelk

Land	Jaar	N	Leeftijd	Congeneer	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	P,p'-DDT	2,6	<b>2,6</b>	0,4	35,3	
				P,p'-DDE	58,6	<b>56,9</b>	10,2	330,3	
				P,p'-DDD		<LOQ	<LOQ	3,8	
Denemarken	'97-'01	65	30,6 (23,6-38,8)	O,p'-DDT	0,46		0,13	1,83	(a)
				P,p'-DDT	5,68		1,62	37,88	
				O,p'-DDE	0,08		0,02	0,28	
				P,p'-DDE	133,76		24,59	427,55	
				O,p'-DDD	0,02		0,00	0,07	
				P,p'-DDD	0,36		0,1	2,2	
Finland	'97-'01	65	28,7 (21,4-39,7)	O,p'-DDT	0,27		0,04	1,21	(a)
				P,p'-DDT	3,43		1,46	12,9	
				O,p'-DDE	0,04		0,01	0,14	
				P,p'-DDE	59,05		18,95	331,16	
				O,p'-DDD	0,02		0,00	0,17	
				P,p'-DDD	0,31		0,1	1,36	
Italië	'98-'00	1 pool (n=10)	31 (24-38)	P,p'-DDT	18				(b)
				P,p'-DDE	300				
	'98-'00	1 pool (n=13)	30 (21-38)	P,p'-DDT	19				
				P,p'-DDE	510				
	'99-'00	1 pool (n=6)	27 (21-29)	P,p'-DDT	9,4				
				P,p'-DDE	210				
'00-'01	1 pool (n=10)	34 (28-40)	P,p'-DDT	44					
			P,p'-DDE	440					
Frankrijk	'02-'05	125*		DDE		<b>98,7</b>	2,8	2165	(c)

(a) Shen *et al.*, 2008; (b) Abballe *et al.*, 2008; (c) Brucker-Davis *et al.*, 2008

\* gemeten in colostrum

#### → HCB

De gemeten HCB-concentraties in de huidige studie zijn vergelijkbaar met de concentraties gemeten in moedermelk van Finse vrouwen in 1997-2001 (Shen *et al.*, 2008), maar lager dan de gehalten waargenomen in moedermelk van vrouwen uit Denemarken in 1997-2001 (Shen *et al.*, 2008) en uit Italië in 1998-2001 (Abballe *et al.*, 2008) en in colostrum van moeders uit Frankrijk in 2002-2005 (Brucker-Davis *et al.*, 2008).

tabel 18: Gemeten concentraties HCB (ng/g vet) in moedermelk

Land	Jaar	N	Leeftijd	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	6,1	<b>6,4</b>	1,7	22,9	
Denemarken	'97-'01	65	30,6 (23,6-38,8)	12,4		6,01	24,56	(a)
Finland	'97-'01	65	28,7 (21,4-39,7)	7,95		2,94	18,55	(a)
Italië	'98-'00	1 pool	31 (24-38)	51				(b)

Land	Jaar	N	Leeftijd	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
		(n=10)						
	'98-'00	1 pool (n=13)	30 (21-38)	70				
	'99-'00	1 pool (n=6)	27 (21-29)	38				
	'00-'01	1 pool (n=10)	34 (28-40)	51				
Frankrijk	'02-'05	125*			<b>22,6</b>	0,6	341,8	(c)

(a) Shen *et al.*, 2008; (b) Abballe *et al.*, 2008; (c) Brucker-Davis *et al.*, 2008

\* gemeten in colostrum

#### 4.6.4. PERFLUORVERBINDINGEN

Voor perfluorverbindingen zijn geen WHO vergelijkingswaarden beschikbaar. PFOS en PFOA waren meetbaar in het mengstaal en in alle individuele stalen. PFNA en PFHxS konden gedetecteerd worden in respectievelijk 43 en 20% van de individuele monsters en niet in het mengmonster. Völkel *et al.* (2008) rapporteerde Duitse (N=57 stalen, '06) en Hongaarse (N=13, '96-'97) PFOS mediaanwaarden van respectievelijk 0.12 en 0.33 ng/ml. Deze waarden liggen in lijn met de landelijke waarde uit de huidige studie (0.12 ng/ml). Gezien de hoge detectielimiet voor PFOA van 0.20 ng/ml (gerapporteerd door Völkel *et al.*, 2008) in vergelijking met 0.01 ng/ml in de huidige studie, kunnen die meetwaarden niet eenduidig vergeleken worden. Zweedse (Kärrman *et al.*, 2007) en Chinese (So *et al.*, 2006) PFOS metingen uit 2004, gaven gemiddeld respectievelijk 0.20 en 0.12 ng/mL. Abraham (2006) rapporteerde dat geen PFOS gemeten konden worden bij een LOD van 0.1–0.4 ng/mL in Duitse gepoolde melkmonsters van 103 moeders, geïncubated tussen 2000 en 2004.

#### 4.6.5. PCB's

De som van de merker-PCB's gemeten in de moedermelkstalen van de huidige studie is duidelijk lager dan de waarden gemeten in moedermelk van Italiaanse vrouwen (som 6 merker-PCB's) in 1998-2001 (Ingelido *et al.*, 2007) en van Franse vrouwen (som 7 merker-PCB's) in 2002-2005 (Brucker-Davis *et al.*, 2008).

tabel 19: Gemeten concentraties merker-PCB's (som 6 merker PCB's: 28, 52, 101, 138, 153 en 180) in moedermelk (ng/g vet)

Land	Jaar	N	Leeftijd	polluent	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	$\sum$ 6 PCB's	38,6	<b>39,7</b>	6,6	149,0	
				$\sum$ 7 PCB's	42,2	<b>44,0</b>	7,4	156,5	
Italië	'98-'00	1 pool (n=10)	31 (24-38)	$\sum$ 6 PCB's	318,24				(a)
	'98-'00	1 pool (n=13)	30 (21-38)	$\sum$ 6 PCB's	305,63				
	'99-'00	1 pool (n=6)	27 (21-29)	$\sum$ 6 PCB's	204,27				
	'00-'01	1 pool (n=10)	34 (28-40)	$\sum$ 6 PCB's	195,35				
Frankrijk	'02-'05	125*		$\sum$ 7 PCB's		<b>182</b>	18,2	1924	(b)

(a) Ingelido *et al.*, 2007; (b) Brucker-Davis *et al.*, 2008

\* gemeten in colostrums;  $\sum$  6 PCB's: PCB28+52+101+138+153+180;  $\sum$  7 PCB's: PCB28+52+101+118+138+153+180

#### 4.6.6. PCDD/F's EN DIOXINEACHTIGE PCB's

De dioxineactiviteit van PCDD/F's en dioxineachtige PCB's werd in de individuele stalen van de huidige studie bepaald met de Calux-assay. De bekomen waarden voor PCDD/F's liggen hoger dan deze voor DL-PCB's. Ook bij de chemische metingen in het mengstaal werd een hogere waarde bekomen voor de dioxineachtige PCB's dan voor de PCDD/F's. Deze waarden zijn vergelijkbaar met Duitse moedermelkstudies in 2000-2003 (Wittsiepe *et al.*, 2007) en in 2005 (Raab *et al.*, 2007), maar in de Duitse studies zijn de gemeten gehalten aan PCDD/F's en DL-PCB's weinig verschillend.

tabel 20: Gemeten concentraties PCDD/F's en dioxineachtige PCB's (DL-PCB's) in moedermelk, uitgedrukt in pg WHO-TEQ/g vet.

Land	Jaar	N	Leeftijd	polluent	Gemiddelde	Mediaan	Min.	Max.	Ref.
Deze studie	'09-'10	84	28,5 (20,6-35,6)	PCDD/F's (Calux)	10,352	<b>10,085</b>	4,09	32,68	
				dL-PCB's (Calux)	1,731	<b>1,705</b>	0,6	8,08	
				PCDD/F's mengstaal	8,41				
				DL-PCB's mengstaal	5,8				
Duitsland	'00-'03	169	19-42	PCDD/F's		<b>13,30</b>	1,80	34,70	(a)
				DL-PCB's		<b>13,00</b>	1,21	50,10	
	2005	43		PCDD/F's	9,91		3,34	26,29	(b)
				DL-PCB's	9,92		3,02	25,31	

(a) Wittsiepe *et al.*, 2007; Raab *et al.*, 2007

### 4.7. WELKE FACTOREN BEÏNVLOEDEN DE POLLUENTCONCENTRATIES?

De resultaten van de univariate regressies voor de verschillende covariaten per pollutant zijn weergegeven in bijlage F. De regressies werden enkel uitgevoerd voor de pollutanten die in meer dan 50% van de stalen boven de LOQ lagen.

De covariaten met een p-waarde < 0,25 werden meegenomen in meervoudige regressiemodellen (bijlage G). Voor elke pollutant werden vaste confounders gedefinieerd die steeds in de meervoudige modellen werden meegenomen. Deze confounders zijn:

- Voor perfluorverbindingen ( $\mu\text{g/L}$ ): leeftijd, BMI
- Voor PCB's, organochloorpesticiden ( $\text{ng/mL}$ ): leeftijd, BMI, rookgedrag voor de zwangerschap, melkvet
- Vlamvertragers ( $\text{ng/mL}$ ): leeftijd, BMI, melkvet
- Calux-waarden voor PCDD/F's en dioxineachtige PCB's ( $\text{pg BEQ/g vet}$ ): leeftijd, BMI, rookgedrag voor de zwangerschap

De variabele die als confounder 'melkvet' werd meegenomen in de meervoudige regressies is het melkvetpercentage bepaald door het VUB-laboratorium (zie hoger).

Mogelijke correlaties tussen de leeftijd van de moeders, de pariteit en het aantal jaren wonen in het landelijke aandachtsgebied werd nagegaan met de Pearson en Spearman rank correlatiecoëfficiënt. Enkel tussen pariteit en leeftijd van de moeder werd een lage ( $r=0,33$ ) correlatie gevonden die significant was ( $p=0,0024$ ).

#### 4.7.1. INVLOED VAN LEEFTIJD OP DE POLLUENTGEHALTES

In de univariate regressies werd een p-waarde kleiner dan 0,25 gevonden voor PFOS, PFOA, PCB105,  $\beta$ -HCH, BDE99, BDE100, BDE154, BDE153, BDE209 (allen uitgedrukt per volume-eenheid) en voor dioxineachtige PCB's en PCDD/F (beide uitgedrukt per gram vet). Enkel voor  $\beta$ -HCH, BDE209 en PCDD/F's werd een p-waarde kleiner dan 0,05 bekomen.

In de meervoudige regressiemodellen werd een significante relatie ( $p<0,05$ ) gevonden tussen leeftijd en de concentraties PFOS,  $\beta$ -HCH en BDE154.

Voor  $\beta$ -HCH en BDE154 worden hogere gehalten waargenomen in moedermelk van oudere deelnemers. Dit kan wijzen op accumulatie van deze pollutanten in het lichaam, waardoor bij oudere deelnemers hogere gehalten voorkomen dan bij jongere deelnemers. Voor PFOS is de trend minder duidelijk.

#### 4.7.2. INVLOED VAN PARITEIT OP DE POLLUENTGEHALTES

In de univariate regressies werd een p-waarde kleiner dan 0,25 gevonden voor PFOS, PFOA, PCB99 en BDE209 (allen uitgedrukt per volume-eenheid). In de meervoudige regressiemodellen werd er een significante relatie ( $p<0,05$ ) gevonden tussen pariteit en de concentraties PFOS en PFOA in moedermelk, waarbij deelnemers met 1 kind hogere concentraties PFOS en PFOA hebben dan deelnemers met 2 kinderen.

**4.7.3. INVLOED VAN WONEN IN HET LANDELIJKE AANDACHTSGEBIED OP DE POLLUENTGEHALTES**

In de vragenlijst werd aan de deelnemers gevraagd:

- In welke gemeente ze nu wonen en hoe lang ze daar al wonen
- In welke gemeente(n) ze vroeger gewoond hebben en hoe lang

Op basis van deze gegevens werd voor elke deelnemer berekend hoe lang ze reeds in het landelijke aandachtsgebied wonen. Deze variabele werd gebruikt om de invloed van wonen in het landelijke aandachtsgebied op de polluentgehalten in de moedermelk na te gaan. De p-waarden voor deze regressies zijn gegeven in tabel 21. Enkel voor PFOS en PFOA werd een p-waarde kleiner dan 0,25 bekomen en werd deze variabele opgenomen in de meervoudige regressie. Ook in het meervoudige regressie model is er een significante relatie ( $p < 0,05$ ) tussen het aantal jaren dat de deelnemers in het landelijke aandachtsgebied wonen en de concentraties PFOS in de moedermelk. Deelnemers die 5 tot 20 jaar in het landelijke aandachtsgebied wonen hebben significant lagere gehalten aan PFOS dan deelnemers die meer dan 20 jaar in het landelijke aandachtsgebied wonen.

*tabel 21: p-waarden voor de univariate regressies van het aantal jaren wonen in het landelijke aandachtsgebied met de verschillende polluenten. OXC = oxychloraan, TN = transnonachlor, DL PCB = dioxineachtige PCB's. Alle polluenten werden getest uitgedrukt per volume-eenheid, behalve de polluenten met \_V die zijn uitgedrukt per g vet.*

Polluent	p-waarde	Polluent	p-waarde	Polluent	p-waarde
PFOS	0.1096	PCB183	0.8886	BDE154	0.6625
PFOA	0.2371	PCB187	0.8698	BDE153	0.8583
PCB74	0.9677	HCB	0.9181	BDE209	0.7582
PCB99	0.9481	DDE	0.9600	SOM 3 PCB	0.9934
PCB105	0.8946	DDT	0.9628	SOM 6 PCB	0.9884
PCB118	0.9825	OXC	0.7775	SOM 7 PCB	0.9929
PCB138	0.9930	TN	0.5827	DL PCB	0.3415
PCB153	0.9988	$\beta$ -HCH	0.9572	DL PCB_V	0.5629
PCB156	0.9137	BDE47	0.9939	PCDD/F	0.6240
PCB170	0.9241	BDE99	0.3938	PCDD/F_V	0.6581
PCB180	0.9577	BDE100	0.9842		

**4.7.4. MEERVOUDIGE REGRESSIES**

De meervoudige regressiemodellen voor de verschillende polluenten zijn weergegeven in bijlage G. Relaties met een p-waarde  $< 0,05$  werden als significant beschouwd.

Voor de merker-PCB's worden significante relaties ( $p < 0,5$ ) bekomen met melkvet en het seizoen waarin het staal genomen werd. De PCB-concentraties (per mL) nemen toe met stijgend vetgehalte in de moedermelk. In stalen genomen in de lente werden significant meer PCB's aangetroffen dan in stalen genomen in de zomer. Gezien het lipofiele karakter van de PCB's is een stijging van de PCB-concentraties met toenemend vetgehalte van de melk te verwachten. De hogere waarden in de stalen die afgenomen werden in de lente kunnen eventueel verband houden met consumptie van vetrijker voedsel in de winterperiode, waardoor eventueel meer PCB's met de voeding worden opgenomen en ook in de moedermelk terecht komen.

Er werden significante relaties gevonden tussen de HCB-concentraties (per mL) in de moedermelkstalen en het gemeten vetgehalte en het consumeren van zelf geteelde groenten. De HCB-concentraties nemen toe met stijgend vetgehalte van de moedermelkstalen. Deelnemers die geen eigen geteelde groenten aten, hadden significant lagere HCB-gehalten. Ook HCB stapelt op in vetten, waardoor een stijging van de concentratie bij hoger vetgehalte van de moedermelk te verwachten is. HCB is een pesticide dat vroeger gebruikt werd om planten, granen en hout te beschermen tegen schimmels. Indien HCB nog aanwezig is in de bodem, kan dit via het eten van zelf geteelde groenten worden opgenomen in het lichaam. In de vragenlijst werd enkel gevraagd hoe frequent de groenten die de deelnemers eten afkomstig waren uit hun eigen tuin. Er is geen informatie beschikbaar over pesticidegebruik, biologisch tuinieren of hoe lang ze reeds producten uit hun eigen tuin consumeren.

Voor de p,p'-DDE-gehaltenes (per mL) werden er significante relaties gevonden met het melkvetgehalte, het seizoen waarin de stalen genomen werden. Voor p,p'-DDT (per mL) waren er significante relaties met met de consumptie van melk en melkproducten. De DDE-concentraties nemen toe met stijgend vetgehalte in de moedermelk. In stalen genomen in de lente werd significant meer DDE aangetroffen dan in stalen genomen in de zomer. Deelnemers die elke dag melk of melkproducten consumeren hebben significant hogere DDT-gehalten in de moedermelk. DDT en DDE zijn vetoplosbaar en accumuleren in vetten. Een stijging van de DDT- en DDE-concentraties met toenemend vetgehalte zijn dan te verwachten. Net zoals bij PCB's kan de seizoensvariatie een verklaring vinden in het opnemen van meer vetrijk voedsel in de winterperiode waardoor de lichaamsbelasting aan vetoplosbare pollutanten na de winter hoger is. De Europese Commissie hanteert een maximum residu gehalte voor de som DDT van 0,04 mg/kg in melk en melkproducten (Regulation (EC) No 396/2005: [http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm)). Het Federaal Voedselagentschap (FAVV) heeft geen overschrijdingen van deze waarde vastgesteld in melk of melkproducten.

De gehalten oxychlordan (per mL) in de moedermelk waren significant gecorreleerd met consumptie van melk en melkproducten. Deelnemers die elke dag melk of melkproducten consumeren hebben significant hogere oxychlordanconcentraties in de moedermelk. De Europese Commissie hanteert een maximum residu gehalte voor som chlordan (cis- en trans-chlordan) van 0,002 mg/kg voor melk en melkproducten (Regulation (EC) No 396/2005: [http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/index.cfm](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm)). Het Federaal Voedselagentschap (FAVV) heeft geen overschrijdingen van deze waarde vastgesteld in melk of melkproducten.

Voor transnonachlor (per mL) werd enkel een significante relatie gevonden met melkvetgehalte, waarbij de transnonachlorgehalten hoger zijn bij hogere melkvetgehalten. Transnonachlor accumuleert sterk in vetweefsels waardoor een toename van transnonachlorgehalten met stijgend vetgehalte van de moedermelk te verwachten is.

Er werden significante relaties gevonden tussen de gehalten aan  $\beta$ -HCH (per mL) en de melkvetgehalten en met de leeftijd van de deelnemers. De  $\beta$ -HCH-concentraties nemen toe met stijgend vetgehalte in de moedermelk en met stijgende leeftijd van de deelnemers. Ook HCH accumuleert in vetweefsel, waardoor een toename met stijgend vetgehalte een te verwachten resultaat is. Doordat HCH zich opstapelt in het lichaam kunnen oudere deelnemers ook hogere gehalten in de moedermelk hebben dan jongere deelnemers.

Voor de vlamvertragers, PBDE's, werden significante relaties waargenomen met BMI en het melkvetgehalte van de moedermelkstalen. De PBDE-concentraties (per mL) nemen toe bij toenemend BMI en stijgend melkvetgehalte van de moedermelk. Dit is te verwachten gezien PBDE's lipofiele stoffen zijn.

Zowel voor de dioxineachtige PCB's als voor de dioxines en furanen (in pg BEQ/g vet) werd een significante relatie gevonden met roken voor de zwangerschap. De gehalten aan dioxineachtige stoffen waren hoger bij ex-rokers dan bij deelnemers die nooit rookten of die aangaven een roker te zijn. Voor de dioxines en furanen werden ook significant hogere gehalten waargenomen in moedermelk bij deelnemers die zijn afgevallen na de zwangerschap en lagere gehalten bij de deelnemers die zijn bijgekomen. Dioxines zijn producten van onvolledige verbranding en ontstaan bij alle verbrandingsprocessen, ook bij het roken van sigaretten. Hogere waarden voor dioxineachtige stoffen bij ex-rokers dan bij niet-rokers zijn dan ook te verwachten. Waarom de gehalten aan dioxineachtige stoffen in deze studiepopulatie niet hogere waren bij de huidige rokers, kunnen we momenteel niet verklaren. Dioxineachtige stoffen stapelen zich op in vetweefsel. Bij gewichtverlies wordt dit vetweefsel deels afgebroken en komen de hierin opgeslagen polluenten vrij in het lichaam.

## HOOFDSTUK 5. VOORSTEL TOT DRAAIBOEK

---

### 5.1. KNELPUNTEN

Er werd vooropgesteld om 100 moeders te rekruteren in het landelijke aandachtsgebied, over een periode van 6 maanden met een mogelijke verlenging van 3 maanden. De rekruteringsperiode heeft uiteindelijk 14 maanden geduurd en er werden 84 deelnemers in de studie ingesloten.

Hieronder worden de voornaamste knelpunten voor de rekrutering kort toegelicht.

#### 5.1.1. INCLUSIECRITERIA ALS REMMENDE FACTOR OP DE REKRUTERING

In de huidige studie werden criteria gesteld waaraan de moeders moesten voldoen om te kunnen deelnemen. De oorspronkelijke inclusiecriteria waren:

- toestemming geven via ondertekening van een geïnformeerd toestemmings-formulier
- borstvoeding geven
- **meerderjarig zijn en maximum 30 jaar (30 jaar inclusief)**
- geboren in België
- **minstens 5 jaar wonen in één van de vermelde gemeenten**
- normale zwangerschap (> 36 weken)
- HIV negatief
- **bevallen van het 1<sup>ste</sup> kind**
- niet bevallen van twee- of meerling
- bevallen van een gezonde baby

Omdat de rekrutering van deelnemers zeer moeizaam verliep, werden de inclusiecriteria aangepast. De hierboven vetgedrukte criteria wijzigden in: tussen 18 en 35 jaar zijn, wonen in het aandachtsgebied en bevallen van max. 2de kind. Er werd nagegaan hoe groot de invloed was van deze criteria op de gemeten gehalten in de moedermelk in de huidige studie.

#### → Belang van de leeftijd van de moeders

In de finale studiegroep was ca. ¼ van de moeders ouder dan 30 jaar (20 moeders op een totaal van 84). Bij de WHO moedermelkprojecten wordt de leeftijd van 30 jaar als grens voorop gesteld. Gezien de resultaten van het huidige mengstaal werden vergeleken met de WHO meetwaarden, werd nagegaan of er eventueel een effect van leeftijd was op de meetwaarden. Dit laatste kon worden nagegaan voor de metingen die uitgevoerd werden bij de individuele melkmonsters. Uit de regressieanalyses (zie 4.6.1.) bleek er voor de meeste polluenten geen significante invloed van leeftijd te zijn in deze studiepopulatie (van 21 tot en met 35 jaar).

**→ Belang van pariteit**

In de meervoudige regressies werd enkel een significante relatie gevonden tussen pariteit en de concentraties PFOS en PFOA in de moedermelk. Deelnemers die bevielen van hun eerste kind hadden hogere waarden dan deelnemers die bevielen van hun tweede kind.

**→ Belang van aantal jaren wonen in het studiegebied**

Van alle deelnemers woonden 15% minder dan 5 jaar in het studiegebied. Voor de organochloorverbindingen en de gebromeerde vlamvertragers (PBDE's) werd in de meervoudige regressies geen significante relatie met de residentietijd in het landelijke aandachtsgebied gevonden (zie 4.6.3.).

**5.1.2. AARD VAN HET STUDIEGEBIED EN REKRUTERING**

Een ander knelpunt voor het vlotte verloop van de rekrutering was de aard van het studiegebied. Het landelijke aandachtsgebied werd gedefinieerd tijdens de eerste humane biomonitoringscampagne van het Steunpunt Milieu en Gezondheid (<250 inwoners/km<sup>2</sup>, geen autosnelweg, geen industriegebied en geen geregistreerde vervuilde terreinen) als bestaande uit verspreide groepjes gemeenten in Oost- en West-Vlaanderen en Vlaams-Brabant. Dit zeer versnipperde karakter van het studiegebied bemoeilijkt een vlot verloop van de rekrutering en van het veldwerk omdat de moeders die in dit versnipperde gebied wonen in veel verschillende materniteiten kunnen bevallen. De kans om moeders te missen bij de rekrutering is dan groter wanneer ze gerekruteerd worden via de materniteiten. Negen materniteiten werden in deze studie betrokken om 84 vrouwen te rekruteren. De veldwerkers dienden bij deze materniteiten herhaaldelijk langs te gaan in een periode van 1 jaar (mei 2009 en juni 2010). De moedermelkstalen werden door de veldwerkers bij de moeders thuis opgehaald. Dit betekent een vrij belangrijke en belastende logistieke inzet van veldwerkers. Om het deelnemersaantal te verhogen werden flyers verspreid. Dit had geen direct effect onder de vorm van spontaan aanmelden van kandidaten, maar vermoedelijk verhoogde het de herkenbaarheid van de studie. Daarnaast bestaat het landelijke aandachtsgebied uit laag bevolkte gemeenten, waardoor het aantal moeders dat bevalt ook gering is.

**5.1.3. DE GEKOZEN MATRIX**

Voor deze studie werd gekozen om de blootstelling aan polluenten te meten in moedermelk omdat:

- De betreffende polluenten opstapelen in vetten en moedermelk een vetrijke matrix is
- Dit een idee geeft over de blootstelling van de baby's in de eerste levensweken
- Moedermelk makkelijk te nemen is zonder medische apparatuur
- Voor de biomerkerwaarden referentiewaarden van de WHO beschikbaar zijn

Een nadeel van deze matrix is dat moeders die geen borstvoeding geven niet aan de studie kunnen deelnemen. In een studiegebied waar het verkrijgen van voldoende deelnemers moeilijk is, is dit een belangrijke beperkende factor. Een mogelijk alternatief is navelstrengbloed, indien de keuze van biomerkers die toelaat.

### 5.1.4. HET AANTAL DEELNEMERS EN STATISTISCHE VERWERKING.

Vooraf werd statistisch onderzocht of 100 deelnemers voldoende zou zijn om significante verschillen in pollutieconcentraties met referentiepopulaties aan te tonen. Indien de inclusiecriteria versoepeld worden, neemt de biologische variatie van de studiepopulatie toe. Dan is een groter aantal deelnemers nodig om statistisch significante verschillen en relaties te verkrijgen.

## 5.2. DRAAIBOEK

### 5.2.1. REKRUTERING

#### → Keuze van het studiegebied

In deze studie maakte het studiegebied een essentieel onderdeel uit van de onderzoeksvraag waardoor er weinig mogelijkheid was tot aanpassen van het studiegebied. Voor onderzoeksvragen die gebonden zijn aan andere kenmerken en waarbij er keuze mogelijk is in de afbakening van het studiegebied is het voor het uitvoeren van humaan biomonitoringsonderzoek aangewezen het studiegebied voldoende groot te nemen en bij voorkeur in een dichtbevolkt gebied.

#### → Keuze voor materniteiten

Net zoals bij de laatste deelname aan de WHO-moedermelkcampagne en zoals bij de biomonitoring campagnes van het Steunpunt Milieu en Gezondheid, waar navelstrengbloed wordt genomen, werd ook in deze studie gekozen om moeders te rekruteren via de materniteiten. De veldwerkers van PIH hebben met vele materniteiten al een vertrouwensrelatie opgebouwd waardoor medewerking van de materniteiten in de meeste gevallen vlot verkregen wordt. Het afnemen van moedermelk gebeurt echter door de moeder zelf, waardoor de materniteiten enkel zorgen voor de contacten met de moeders. Het is dus technisch niet vereist om via materniteiten te werken. In een sterk versnipperd gebied zoals het landelijke aandachtsgebied moeten dan veel materniteiten worden ingeschakeld en kan het nuttig zijn naar andere mogelijkheden uit te kijken.

Omdat het een sterk versnipperd en een laag bevolkt gebied is, is het aangewezen een gemeenschappelijke actor in te schakelen om de aanstaande moeders te bereiken. Dit kan zijn:

- Kind en Gezin: bij elke geboorte is er kort na de bevalling een contact tussen de moeder en een medewerker van Kind en Gezin. Er kan onderzocht worden of de rekrutering van de moeders via hen kan verlopen. Het is voor K&G niet haalbaar is om veel praktische taken op te nemen, tenzij ze beroep kunnen doen op een externe (lokale) veldwerker.
- De gynaecologen: elke zwangerschap wordt opgevolgd door een gynaecoloog. Eventueel kunnen informatiebrochures al dan niet voorzien van toestemmingsformulieren via de gynaecologen aan de aanstaande moeders worden meegegeven.

#### → Inclusiecriteria

In een sterk versnipperd en laag bevolkt gebied als het landelijke aandachtsgebied is het aangewezen de inclusiecriteria niet te streng te maken om aan voldoende deelnemers te komen. Anderzijds bepalen de inclusiecriteria mee de variatie binnen de studiepopulatie. Beperken van de spreiding op kenmerken zoals de leeftijd, de pariteit en het woongebied zorgen voor een homogener studiepopulatie. Indien de onderzoeksvragen strenge inclusiecriteria vereisen, is het in laag bevolkte gebieden aangewezen andere parameters van de studie (vb. de matrix, de lengte van de rekruteringsperiode) zodanig te kiezen dat het rekruteren van voldoende deelnemers haalbaar blijft.

#### 5.2.2. KEUZE VAN DE MATRIX

Kinderen worden beschouwd als een gevoelige doelgroep voor blootstelling aan polluenten omdat zij nog volop in ontwikkeling zijn. Blootstelling aan polluenten aan het begin van het leven krijgt dan ook veel belangstelling. In dit opzicht vormt naast moedermelk ook navelstrengbloed een interessante matrix. In een versnipperd en laagbevolkt studiegebied kunnen dan ook moeders worden ingesloten die geen borstvoeding geven.

De voor- en nadelen van beide matrices worden hieronder opgesomd.

#### Moedermelk:

- ☺ Referentiewaarden beschikbaar (Vlaams, Belgisch en internationaal)
- ☺ Vetrijke matrix (goed voor meten van vetoplosbare stoffen, tabel 22)
- ☺ Grotere volumes mogelijk
- ☺ Niet-invasief
- ☺ Makkelijk te nemen zonder medische apparatuur
- ☺ Lage belasting voor materniteiten
- ☹ Minder geschikt voor meten van niet-vetoplosbare polluenten (tabel 22)
- ☹ Moeders die geen borstvoeding geven kunnen niet deelnemen
- ☹ Samenstelling varieert met de tijd<sup>5</sup>

<sup>5</sup> Clewell RA, Gearhart JM. Pharmacokinetics of toxic chemicals in breast milk: use of PBPK models to predict infant exposure. Environ Health Perspect. 2002 Jun;110(6):A333-7.

## Navelstrengbloed:

- ☺ Referentiewaarden beschikbaar (Vlaams en internationaal)
- ☺ Bevat bloedvetten
- ☺ Niet-vetoplosbare polluenten kunnen hierin beter gemeten worden dan in moedermelk (tabel 22)
- ☺ Niet-invasief
- ☺ Ook moeders die geen borstvoeding geven kunnen deelnemen
- ☺ Geeft een beeld van de blootstelling in de prenatale periode
- ☹ Afname en behandeling van het navelstrengbloed moet in de materniteiten gebeuren
- ☹ Enkel voor polluenten die door de placentabarière kunnen
- ☹ Beperkt in volume

tabel 22: meetbaarheid van de polluenten in moedermelk van de huidige studie en in navelstrengbloed van de tweede humane biomonitoringscampagne van het Steunpunt Milieu en Gezondheid.

Component	Navelstrengbloed (referentie biomon. FLEHS II)		Moedermelk (huidige studie)	
	Concentratie (ref. gem.)	% boven LOD/LOQ	Concentratie (geom. gem.)	% boven LOD/LOQ
<b>Perfluorverbindingen (µg/L)</b>				
PFOS	<b>2.64</b>	100	<b>0.104</b>	100
PFOA	<b>1.50</b>	100	<b>0.072</b>	100
PFNA	Niet gemeten	Niet gemeten	-	42.5
<b>PCB's (ng/L)</b>				
Som 3 merker PCB's	<b>120</b>	75.1	<b>1527</b>	100
<b>HCB (ng/L)</b>	<b>19</b>	100	<b>246</b>	100
<b>DDT groep (ng/L)</b>				
P,p'-DDD			-	7.1
P,p'-DDE	<b>160</b>	100	<b>2353</b>	100
P,p'-DDT			<b>103</b>	72.6
<b>Poybromodifenylethers</b>				
PBDE's (ng/L)				
BDE28	-	0	-	14.3
BDE47	-	13.9	<b>7.4</b>	97.6
BDE99	-	3.2	<b>2.5</b>	63.1
BDE100	-	2.4	<b>2.4</b>	60.7
BDE154	-	5.5	<b>2.9</b>	79.8
BDE153	-	0.4	<b>11.5</b>	97.6
BDE183	-	0.8	-	15.5
BDE209	-	4.7	<b>25.2</b>	57.1
<b>HBCD (ng/L)</b>	-	0.8	<b>0.13*</b>	Goed meetbaar in mengmonster

\* niet geanalyseerd in individuele monsters. Waarde in mengmonster omgerekend van 3.8 ng/g vet naar ng/L, met vetgehalte van 3.5%

'-' geen waarde berekend, gezien niet detecteerbaar in meer dan de helft van de stalen

PCB's en gechloreerde pesticiden zijn in gelijke mate meetbaar in beide matrices. De gehalten per volume-eenheid zijn duidelijk hoger in moedermelk. Dit is te verklaren door het hoger vetgehalte in moedermelk (35g/L vs. ca. 2g/L in navelstrengbloed).

Gebromeerde vlamvertragers, welke ook in de vetfase voorkomen, zijn in veel lagere concentraties aanwezig dan gechloreerde verbindingen. Ze zijn quasi niet meetbaar in navelstrengbloed (en in perifeer bloed), maar wel in moedermelk, omdat het vetgehalte hoger is.

De gehalten aan perfluorverbindingen zijn veel lager in moedermelk in vergelijking met serum/plasma, gezien ze vooral gebonden zijn aan eiwitten in het serum/plasma. Met een voldoende lage LOD (zoals in de huidige studie) zijn de waarden in moedermelk toch goed te meten in alle monsters.

### **5.2.3. KEUZE VAN DE POPULATIEGROOTTE**

In deze studie werd voorop gesteld om 100 deelnemers te rekruteren. Ondanks een verlenging van de rekruteringsperiode werd dit aantal niet gehaald en bestond de studiegroep uit 84 deelnemers. De variatiecoëfficiënten voor de polluenten gemeten in de individuele metingen zijn groter dan deze voor de WHO-studiegroep van 2006 (n = 190). Eén van de factoren die de betrouwbaarheid van de bekende biomarkerwaarden beïnvloeden is de populatiegrootte. Hoe groter de populatie, hoe nauwkeuriger de schatters. Zoals reeds hoger vermeld beïnvloeden ook kenmerken zoals de leeftijd, de pariteit en het woongebied mee de variatie. Indien de grenzen voor deze kenmerken ruim worden genomen, zal de spreiding van de resultaten groter zijn, en is bijgevolg ook een groter aantal deelnemers nodig om met voldoende zekerheid significante verschillen te detecteren. Hoe kleiner de variatie, hoe makkelijker statistisch significante verschillen en relaties kunnen worden gevonden.

We kunnen dan ook adviseren om de studiegroep niet te sterk te beperken in aantal deelnemers.

### **5.2.4. TIJDSPERIODE VOOR HET OPSTELLEN VAN REFERENTIEWAARDEN**

Verschillende polluenten kennen een evolutie in de tijd. De 'oudere' polluenten waarvoor de gezondheidseffecten reeds geruime tijd gekend zijn en in het verleden maatregelen tot verminderen van de blootstelling werden genomen, kennen een dalende tijdstrend. 'Nieuwere' polluenten waarvan de gezondheidseffecten pas de laatste jaren onderzocht worden of waarvoor geen of recente maatregelen tot reductie worden genomen, kennen vaak een stijgende tijdstrend. Uit de humane biomonitoringstudies van de WHO blijkt dat tijdstrends al over een periode van 4-5 jaar zichtbaar zijn in moedermelk. Om specifieke of lokale studies te kunnen vergelijken met relevante referentiewaarden, is het noodzakelijk op geregelde tijdstippen (bijvoorbeeld elke 4 jaar) Vlaamse referentiecampagnes uit te voeren. De mogelijkheid kan onderzocht worden om het nemen van moedermelkstalen toe te voegen aan de reeds bestaande cycli van humane biomonitoring, uitgevoerd door het Steunpunt Milieu en Gezondheid.

### **5.2.5. TOEGEVOEGDE WAARDE INDIVIDUELE STALEN VERSUS MENGSTALEN**

In deze studie werden pollutieconcentraties gemeten in zowel individuele moedermelkstalen als in een mengstaal. Voor- en nadelen van beiden worden hieronder opgesomd.

### Mengstaal:

- ☺ Beperkte analysekosten
- ☺ Algemeen beeld van concentratiegehalten aan pollutie
- ☺ Geschikt voor moeilijke of nieuwe meetmethoden/polluente
- ☹ Geen informatie over uitersten in de populatie (P10, P25, P75, P90)
- ☹ Geen informatie over de grootte van de variatie
- ☹ Geen mogelijkheid tot dosis-effect analyse
- ☹ Geen mogelijkheid tot bepalen van invloedsfactoren op de pollutiegehalten
- ☹ Een kleinere analysekost, maar de inspanningen voor het veldwerk zijn even groot als voor individuele stalen

### Individuele stalen:

- ☺ Uitgebreide informatie over de pollutiegehalten in de studiepopulatie (P10, P25, P75, P90)
- ☺ Informatie over de grootte van de variatie
- ☺ Mogelijkheid tot het bepalen van de invloedsfactoren op de pollutiegehalten
- ☺ Mogelijkheid tot bepalen van dosis-effect relaties
- ☹ Grotere analysekost

---

## HOOFDSTUK 6. BESLUIT

---

### 6.1. BESLUIT MEETRESULTATEN

#### 6.1.1. VERGELIJKING MET METINGEN BELGISCH MENGSTAAL VAN VIERDE WHO-MOEDERMELKCAMPAGNE IN 2006.

De meetwaarden voor de verschillende polluenten in het mengstaal van de huidige campagne werden vergeleken met deze van het Belgische mengstaal van de vierde WHO-moedermelkcampagne in 2006. Rekening houdend met de beschikbare gegevens over de technische en biologische variatie op de meetwaarden, kan gesteld worden dat in het landelijke aandachtsgebied volgende wordt waargenomen:

- 94% hogere waarden voor transnonachlor (geen schatting van de biologische variatie voor de WHO-campagne van 2006)
- 122% hogere waarden voor gebromeerde furaan 2,3,4,7,8-PeBDF (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes)
- 153% hogere waarden voor som HBCD (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes). Gezien het grote verschil, kan wel gesteld worden dat dit een betekenisvolle trend is.
- 41% lagere waarden voor BDE15 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes.)
- 68% lagere waarden voor BDE85 (geen schatting van de biologische variatie voor beide campagnes.)

Uit de vergelijking van de ratio's transnonachlor/oxychlorodaan is af te leiden dat het zowel in de huidige als in de Belgische WHO-studiepopulatie om historische blootstelling gaat, maar dat de blootstelling aan transnonachlor in het landelijke aandachtsgebied relatief recenter is dan deze van de Belgische WHO-studiepopulatie.

Analyses in een mengstaal zijn nuttig om snel een algemeen beeld te kunnen vormen van de blootstelling van een populatie. Indien het de bedoeling is deze blootstelling te vergelijken met andere studies, moet worden rekening gehouden met de technische variatie eigen aan de meting en met de biologische variatie eigen aan de onderzochte studiepopulatie. Aan de hand van een schatting van de variatie kan worden nagegaan of een waargenomen verschil betekenisvol is. Om deze variatie goed te kunnen inschatten, zijn individuele metingen noodzakelijk.

#### 6.1.2. VERGELIJKING MET BUITENLANDSE WAARDEN

De mate van blootstelling aan vlamvertragers en het soort vlamvertragers waaraan mensen worden blootgesteld vertoont grote verschillen tussen landen en geografische regio's ten gevolge van verschillen in wetgeving en gebruik. Blootstelling aan PBDE's is in Amerika groter dan in Europa, maar de blootstelling aan decaBDE lijkt wel vergelijkbaar. Ook binnen Europa zijn verschillen merkbaar. De Belgische moedermelkstalen uit de huidige studie hebben lagere gehalten

aan HBCD dan moedermelk van vrouwen uit Spanje, maar nog lagere concentraties werden waargenomen in Frankrijk en Zweden. Anderzijds liggen de gemeten PBDE-concentraties in moedermelk van Frankrijk, Duitsland en Italië wel hoger dan in de moedermelk uit de huidige studie. Dit kan te wijten zijn aan een verschillende blootstelling door een verschil in gebruik van vlamvertragers tussen deze landen. Gezien het tijdsverschil tussen de studies kan ook het vervangen van PBDE's door HBCD, ten gevolge van het verbod op gebruik van sommige PBDE's bijdragen tot een hogere blootstelling aan HBCD in de laatste jaren.

Wat de organochloorpesticiden betreft, zijn de gemeten HCH-concentraties in de huidige studie lager dan de gehalten die 10 jaar geleden gemeten werden in Deense en Finse moedermelk. De gemeten concentraties DDT, DDE, DDD en HCB zijn de huidige studie vergelijkbaar met meetwaarden in moedermelk van Finse vrouwen en lager dan gehalten in moedermelk van vrouwen uit Denemarken en Italië van 10 jaar geleden.

Vergelijken van de gemeten gehalten aan perfluorverbindingen met bevindingen in andere studies wordt bemoeilijkt door de grote verschillen in detectielimieten voor deze perfluorverbindingen tussen de verschillende studies.

De som merker-PCB's gemeten in deze studie is lager dan de waarden in moedermelk van Italiaanse vrouwen 10 jaar geleden en van Franse vrouwen in 2002-2005. De gemeten waarden voor dioxine-achtige PCB's en PCDD/F's zijn vergelijkbaar met een Duitse moedermelkstudie in 2005. In de Duitse studie zijn de gehalten dioxineachtige PCB's en PCDD/F's weinig verschillend. In de huidige studie daarentegen liggen de bekomen waarden voor de PCDD/F's hoger dan deze voor de DL-PCB's en dit zowel voor de chemische metingen als voor de Calux-assay.

### **6.2. AANBEVELINGEN VOOR HET OPVOLGEN VAN HET LANDELIJKE AANDACHTSGEBIED**

Het is aan te bevelen om de studiepopulatie niet te sterk te beperken in aantal deelnemers omwille van de nauwkeurigheid van de geschatte biomerkerwaarden. Gezien de aard van het in deze studie geselecteerde gebied, sterk versnipperd en laag bevolkt, konden er in deze studie slechts 84 deelnemers worden ingesloten na een rekrutering van 14 maanden. We besluiten hieruit dat het collecteren van moedermelkstalen, praktisch gezien, hier niet de aangewezen matrix is. Door te werken met moedermelk kunnen moeders die geen borstvoeding geven niet deelnemen aan de studie. Wanneer gewerkt wordt met navelstrengbloed zullen meer moeders in aanmerking komen om deel te nemen aan de studie.

De gechlloreerde verbindingen die in het landelijke aandachtsgebied worden opgevolgd, zijn ook in navelstrengbloed goed meetbaar. Interessant om op te volgen in het landelijke aandachtsgebied zijn de gechlloreerde pesticiden transnonachlor en DDT met zijn afbraakproducten. Beide pesticiden zijn reeds geruime tijd verboden voor gebruik in België. Toch lijkt op basis van de pesticide/metaboliet ratio voor transnonachlor de blootstelling in het landelijke aandachtsgebied recenter te zijn dan in de WHO-studiepopulatie van 2006. Opvolging van de evolutie van deze pollutant in lokale campagnes lijkt hier aangewezen. Transnonachlor werd echter niet opgenomen in de humane biomonitoringcampagnes van het Steunpunt Milieu en Gezondheid. Zowel transnonachlor als DDT zijn moeilijker detecteerbaar in bloed dan in moedermelk.

De gebromeerde vlamvertragers zijn beter meetbaar in moedermelk dan in navelstrengbloed. Vooral de vlamvertrager HBCD (hexabromocyclododecaan) lijkt in het landelijke aandachtsgebied van belang te zijn. In de referentiebiomonitoring van het Steunpunt Milieu en Gezondheid was deze pollutant slechts meetbaar in 0,8% van de navelstrengbloedstalen. In de huidige

moedermelkstudie werd HBCD enkel gemeten in het mengstaal. Opvolging van deze pollutant lijkt eerder aangewezen in individuele moedermelkstalen. Vlamvertragers worden beschouwd als opkomende pollutanten en worden nog niet zo lang in humane biomonitoringstudies gemeten. Voor deze pollutanten lijkt het aangewezen om eerder een Vlaamse moedermelkcampagne te starten.

Verschillende pollutanten kennen een evolutie in de tijd. Uit de humane biomonitoringstudies van de WHO blijkt dat tijdstrends al over een periode van 4-5 jaar zichtbaar zijn in moedermelk. Om specifieke of lokale studies te kunnen vergelijken met relevante referentiewaarden, is het noodzakelijk op geregelde tijdstippen (bijvoorbeeld elke 4 jaar) Vlaamse referentiecampagnes uit te voeren. De mogelijkheid kan onderzocht worden om het nemen van moedermelkstalen toe te voegen aan de reeds bestaande cycli van humane biomonitoring, uitgevoerd door het Steunpunt Milieu en Gezondheid.

### **6.3. AANBEVELINGEN VOOR HET OPZETTEN VAN NIEUWE BIOMONITORINGSTUDIES**

Zoals hierboven reeds aangegeven is het nuttig om op regelmatige tijdstippen, minstens elke 4-5 jaar, Vlaamse referentiecampagnes uit te voeren. Specifieke studies kunnen dan steeds met een relevante referentiewaarde vergeleken worden en algemene trends kunnen worden opgevolgd. Binnen het Steunpunt Milieu en Gezondheid bestaat er al een zeer effectief protocol om biomerkers in perifeerbloed, navelstrengbloed en urine van verschillende leeftijdsgroepen op te volgen. Eventueel kan dit protocol worden uitgebreid met moedermelk voor de pollutanten die beter meetbaar zijn in deze matrix dan in bloed of urine.

Voor nieuwe lokale of specifieke studies kan gesteld worden dat voor kleine, laag bevolkte of zeer versnipperde gebieden best gekozen wordt voor de meest beschikbare matrix in de bevolkingsgroep, de meest geschikte matrix voor de biomarker van interesse, voor zo ruim mogelijke inclusiecriteria en voor een zo groot mogelijke populatie. Voor grote, dicht bevolkte gebieden wordt de keuze van de matrix vooral bepaald door de biomarker van interesse en kunnen strengere inclusiecriteria gehanteerd worden. Ook hier dient te worden gestreefd naar een zo groot mogelijke studiepopulatie.

LITERATUURLIJST

Abbelle, A., Ballard, T., J., Dellatte, E., di Domenico, A., Ferri, F., Fulgenzi, A.R., Grisanti, G., Iacovella, N., Ingelido, A.M., Malisch, R., Miniero, R., Porpora, M.G., Risica, S., Ziemacki, G. & E. De Felip (2008) Persistent environmental contaminants in human milk: concentrations and time trends in Italy. *Chemosphere* 73: 220-227.

Antignac, J.-Ph., Cariou, R., Maume, D., Marchand, Ph., Monteau, F., Zalko, D., Berrebi, A., Cravedi, J.-P., Andre, F. & B. Le Bizec (2008) Exposure assessment of fetus and newborn to brominated flame retardants in France: preliminary data. *Mol. Nutr. Food Res.* 52: 258-265.

Brucker-Davis, F., Ducot, B., Wagner-Mahler, K., Tommasi, C., Ferrari, P., Pacini, P., Boda-Buccino, M., Bongain, A., Azuar, P. & P. Fénelon (2008) Polluants environnementaux dans le lait maternel et cryptorchidie. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36: 840-847.

Colles, A., Koppen, G., Hanot, V., Nelen, V., Dewolf, M.-C., Noël, E., Malisch, R., Kotz, A., Kypke, K., Biot, P., Vinkx, C. & G. Schoeters (2008) Fourth WHO-coordinated survey of human milk for persistent organic pollutants (POPs): Belgian results. *Chemosphere*, 73(6): 907-914.

Eljarrat, E., Guerra, P., Martinez, E., Farré, M., Alvarez, J.G., Lopez-Teijon, M. & D. Barcelo (2009) Hexabromocyclododecane in human breast milk: levels and enantiomeric patterns. *Environmental Science & Technology* 43(6): 1940-1946.

Fürst, P. (2006) Dioxins, polychlorinated biphenyls and other organohalogen compounds in human milk. *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 922-933.

Ingelido, A.M., Ballard, T., Dellatte, E., di Domenico, A., Ferri, F., Fulgenzi, A.R., Herrmann, T., Iacovella, N., Miniero, R., Pöpke, O., Porpora, M.G. & E. De Felip (2007) Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in milk from Italian women living in Rome and Venice. *Chemosphere* 67: 301-306.

Kärman, A., Ericson, I., van Bavel, B., Darnerud, P.O., Aune, M., Glynn, A., Lignell, S. & G. Lindström (2007) Exposure of perfluorinated chemicals through lactation – Levels of matched human milk and serum and temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environmental Health Perspectives*, 115(2): 226-230.

Lignell, S., Darnerud, P.O., Aune, M. & A. Törnkvist (2003) Persistent organic pollutants (POP) in breastmilk from primiparae women in Uppsala County, Sweden, 2002-2003. Report to the Swedish Environmental Protection Agency, 2003-11-05

Lignell, S., Aune, M., Darnerud, P. & A. Glynn (2005) Persistent organic pollutants (POPs) in breastmilk from primiparae women in Uppsala, Sweden, 2004. Report to the Swedish Environmental Protection Agency, 2005-10-04

Malisch, R., Kypke, K., van Leeuwen, R.F.X., Moy, G. & S. Park (2008) Evaluation of WHO-coordinated exposure studies on levels of persistent organic pollutants (POPs) in human milk with regard to the global monitoring plan. *Organohalogen Compounds*, 70: 228-232.

- Raab, U., Schwegler, U., Preiss, U., Albrecht, M. & H. Fromme (2007) Bavarian breast milk survey – Pilot study and future developments. *International Journal of hygiene and environmental health* 210: 341-344.
- Ryan J & B. Patry (2002) Recent trends in levels of brominated flame retardants in human milks from Canada. Presented at Dioxin 2002, 11–16 August 2002, Barcelona, Spain.
- She, J., Holden, A., Sharp, M., Tanner, M., Williams-Derry, C. & K. Hooper (2007) Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in breast milk from the Pacific Northwest. *Chemosphere* 67: 307-317.
- Shen, H., Main, K.M., Andersson, A.-M., Damgaard, I.N., Virtanen, H.E., Skakkebaek, N.E., Toppari, J. & K.-W. Schramm (2008) Concentrations of persistent organochlorine compounds in human milk and placenta are higher in Denmark than in Finland. *Human Reproduction* 23(1): 201-210.
- So, M.K., Yamashita, N., Taniyasu, S., Jiang, Q., Giesy, J.P., Chen, K. & P. K. S. Lam (2006) Health risks in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan, China. *Environmental Science & Technology* 40(9): 2924 – 2929.
- Thomsen, C., Haug, L.S., Stigum, H., Froshaug, M., Broadwell, S.L. & G. Becher (in press) Changes in concentrations of perfluorinated compounds, polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in Norwegian breast-milk during twelve months of lactation. *Environmental Science & Technology* (in press, accepted November 2010).
- Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A.T.C., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J.P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S.W., Kubiak, T., Larsen, J.C., Van Leeuwen, F.X., Liem, A.K., Nolt, C., Peterson, R.E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F. & T. Zacherewski (1998) Toxic equivalent factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 106: 775-792.
- Van den Berg, M., Birnbaum, L.S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, C., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N. & R.E. Peterson (2006) The 2005 World Health Organization re-evaluation of human and mammalian toxic equivalent factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Tox. Sci.*, 93: 223-241.
- Völkel, W., Genzel-Boroviczény, O., Demmelmair, H., Gebauer, C., Koletzko, B., Twardella, D., Raab, U. & H. Fromme (2008) Perfluorooctane sulphonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in human breast milk: results of a pilot study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 211(3-4): 440-446.
- WHO. (1994). Brominated diphenyl ethers. International programme on chemical safety. *Environmental Health Criteria*. World Health Organization.  
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc>.
- Wittsiepe, J., Fürst, P., Schrey, P., Lemm, F., Kraft, M., Eberwein, G., Winneke, G. & M. Wilhelm (2007) PCDD/F and dioxine-like PCB in human blood and milk from German mothers. *Chemosphere* 67: 286-294.

## BEGRIPPENLIJST

### **Biomerker**

Meting in bloed, urine, haar, tanden, uitgeademde lucht of andere lichaamsweefsels. Geeft rechtstreeks informatie over de aanwezigheid van specifiek vervuilende stoffen/agentia in het lichaam (biomerker van blootstelling) of signaleren vroegtijdige biologische effecten die nog niet als onomkeerbare gezondheidsschade dienen beschouwd te worden (biomerker van gezondheidseffect of effectbiomerker).

### **Calux-assay**

Chemical Activated Luciferase Assay, gebruikt om het mengsel van dioxineachtige stoffen op te sporen via binding op een Ah-receptor van genetisch gemanipuleerde cellen (van ratten of muizen). Bij binding van stoffen op de receptor komt een lichtsignaal vrij. De sterkte van het lichtsignaal neemt toe met toenemende hoeveelheid dioxineachtige stoffen en in geval van sterkere binding met de receptor.

### **Estimate**

De 'estimate'-waarde geeft de verwachte verandering van de covariaat bij één eenheid verandering van de afhankelijke variabele (hier: de concentraties van de pollutanten). Bij een positief teken veranderen beide in dezelfde richting en bij een negatief teken in tegengestelde richting.

### **p-waarde**

De p-waarde geeft de kans weer dat de nulhypothese (bijvoorbeeld: geen verschil tussen groepen, geen relatie tussen variabelen) waar is. Hoe kleiner de p-waarde, hoe kleiner de kans dat de nulhypothese geldig is. In deze studie worden p-waarden kleiner of gelijk aan 0,05 als significant beschouwd.

### **Referentiegemiddelde**

Gemiddelde biomerkerwaarde van alle deelnemers uit een leeftijdsgroep aan de humane biomonitoringscampagne. Bij het berekenen van deze waarde werd gecorrigeerd voor roken, geslacht en leeftijd en representeert de waarde van een gemiddelde deelnemer. Het is tevens een populatiegewogen gemiddelde dat rekening houdt met het verschillende aantal inwoners in elk aandachtsgebied.

### **Standard error**

De 'standard error' van een regressie geeft weer in welke mate de geschatte 'estimate'-waarde afwijkt van de werkelijke waarde.

### **TEQ**

Toxisch Equivalentie Quotiënt. Eenheid die wordt gebruikt om het gehalte van het gemeten mengsel dioxineachtige stoffen uit te drukken als het gehalte van de meest toxische congener (2,3,7,8-dioxine).

**BIJLAGE A: NOTA OMTRENT OPTIES VOOR UITBREIDING REKRUTERINGSKRITERIA****Probleemstelling**

De rekrutering loopt 4.5 maanden. Tot dusver zijn 4 van de 10 potentiële ziekenhuizen in de landelijke regio opgestart. De 5 andere zijn gecontacteerd.

- N=40 moeders kwamen in aanmerking gebaseerd op de criteria zoals ze nu zijn vastgelegd: eerste kindje, leeftijd 18-35j, wonen in één van de landelijke gemeenten.
- Daarvan woonden N=16 ook 5 jaar in het gebied.
- N=8 wilden ook effectief meedoen.

Besluit: de rekrutering loopt te traag, ook al zijn nog niet alle materniteiten actief.

**Voorstel aanpassing rekruteringsstrategie**

Via de gemeenten kunnen alle adressen opgevraagd worden van de vrouwen tussen 18 en 35 jaar. Bij deze vrouwen zou een flyer in de brievenbus worden gestoken met uitleg over de studie en de vraag PIH te contacteren indien ze menen dat ze in aanmerking komen. Het te verwachten aantal vrouwen die bevallen in die gemeenten en die we kunnen bereiken op basis van geboortecijfers van 2007 bedraagt N=1774. In de tabel onderaan staan de aantallen die overblijven op basis van de inclusiecriteria:

	Theoretisch	
	%	Aantal
Aantal geboortes/jaar		<b>1774</b>
eerste kind	47	834
borstvoeding	60	500
20-35 jaar	75	375
5 jaar in gebied	<b>50</b>	<b>188</b>
Geschatte deelname	<b>60</b>	<b>113</b>

Dit geeft 113 potentiële deelnemers per jaar. Het is dus zelfs met deze rekruteringsstrategie, nodig om ook de inclusiecriteria te versoepelen. Er zijn twee mogelijkheden die substantieel kunnen bijdragen om de aantallen op te drijven:

- (i) vrouwen die bevallen van tweede kind ook insluiten (ca. 40-50% meer deelnemers)
- (ii) 5 jaar wonen in het gebied laten vallen (tot max. ca. 50% meer potentiële deelname)

Om de impact van de versoepeling van deze inclusiecriteria op de gemeten gehalten aan gechlloreerde verbindingen in te schatten, zijn er berekeningen gebeurd op navelstrengbloedwaarden van deelnemers aan de humane biomonitoring van 2002-2006. Zij geven net als moedermelk, een indicatie van de body burden aan deze stoffen in de moeders. Alle onderstaande berekeningen werden uitgevoerd op de groep van pasgeborenen/moeders uit de landelijk regio, welke tussen 20 en 35j oud waren.

***Oplissing I: vrouwen die bevallen van tweede kind ook insluiten***

Op basis van de pasgeborenen campagne van 2002-2006 werd nagegaan wat de impact is van de pariteit én het aantal weken borstvoeding op de gehalten aan gechlloreerde verbindingen die

worden gemeten. De vraag die rees, is of met toename van de pariteit en/of het aantal weken ooit borstvoeding gegeven, er een daling in gehalten aan deze verbindingen wordt gemeten. Dit werd niet vastgesteld.

*Impact van pariteit*

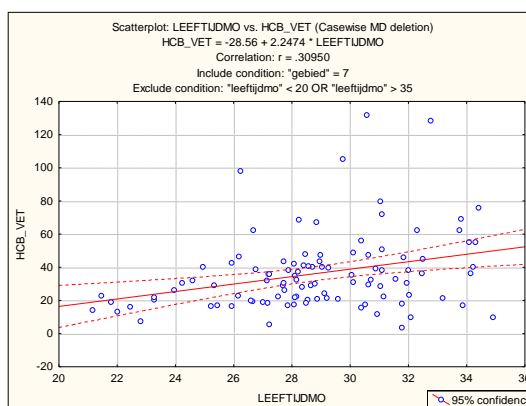
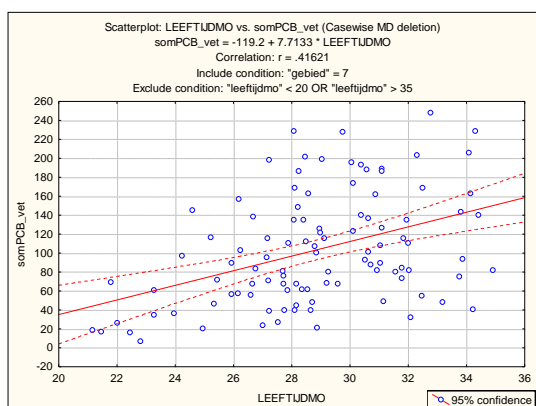
Tabel: Overzicht van de navelstrengplasmawaarden aan gechloreerde verbindingen bij de vrouwen (20-35j) van de landelijke gemeenten die deelnamen aan de pasgeborenenencampagne (2002-2006).

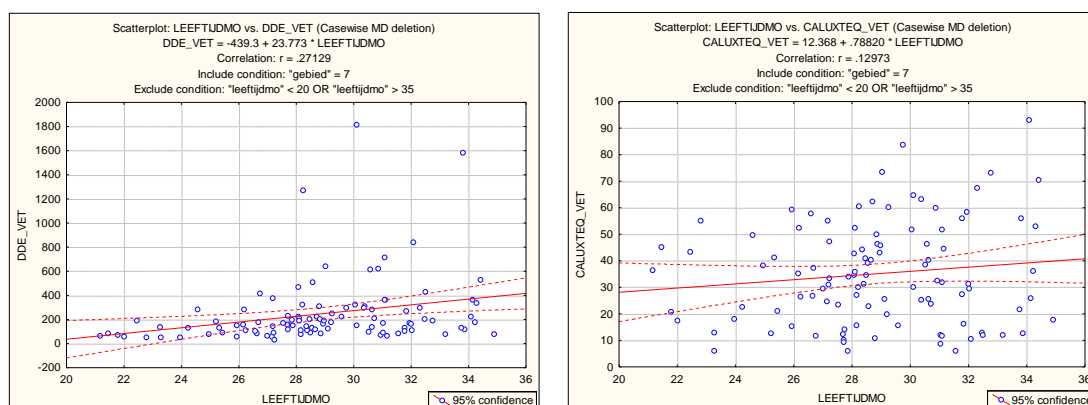
Pariteit	N	Median	Lower Quartile	Upper Quartile
<b>1(eerste kindje)</b>				
leeftijd moeder: 27.8 (25.8-30.3)j*				
somPCB_vet	109	<b>72.0</b>	52.3	121.6
HCb_VET	103	<b>26.5</b>	18.0	37.2
DDE_VET	109	<b>157.0</b>	103.9	216.2
CALUXBEQ_VET	65	<b>31.0</b>	18.1	45.9
<b>2</b>				
leeftijd moeder: 29.9 (28.0-32.0),				
somPCB_vet	50	<b>93.6</b>	61.9	135.2
HCb_VET	50	<b>31.1</b>	19.4	43.6
DDE_VET	50	<b>174.1</b>	98.2	282.3
CALUXBEQ_VET	35	<b>34.7</b>	25.2	49.7
<b>3</b>				
leeftijd moeder: 30.9 (28.7-31.1)j*				
somPCB_vet	10	<b>112.7</b>	87.1	186.3
HCb_VET	9	<b>55.3</b>	36.4	76.0
DDE_VET	10	<b>184.6</b>	125.4	462.3
CALUXBEQ_VET	6	<b>46.7</b>	14.0	60.5

\* mediaan (interkwartielrange)

De gehalten aan gechloreerde verbindingen nemen toe met de pariteit. Dit heeft te maken met de het feit dat vrouwen die bevallen van een tweede of derde kindje ouder zijn dan deze die van een eerste kindje bevallen.

De gehalten aan polluenten nemen duidelijk toe met de leeftijd (in onderstaande grafieken voorgesteld voor de vrouwen tussen 20 en 35 j). Het mogelijk effect van de dalende gehalten in navelstrengbloed t.g.v. de toenemend pariteit wordt m.a.w. teniet gedaan door de leeftijdsgebonden toename van de gehalten. Pariteit is een niet-significante parameters voor de navlstrengbloedgehalten van de gechloreerde stoffen als het samen met leeftijd en BMI van de moeders in het meervoudige regressiemodel wordt opgenomen.





### Impact van het aantal weken borstvoeding

Daarnaast werd nagegaan in welke mate het geven van borstvoeding een invloed had op de gehalten in het navelstrengbloed. Er was geen duidelijke trend. Er werd ook geen trend in gehalten vastgesteld met het aantal weken borstvoeding dat werd gegeven door de moeders. Aantal weken borstvoeding was eveneens geen significante parameter voor de navlstrengbloedgehalten van de gechloreerde stoffen als het samen met leeftijd en BMI van de moeders in het meervoudige regressiemodel wordt opgenomen.

NB: Het aantal weken 'ooit borstvoeding geven' bij de moeders die in het verleden borstvoeding hadden gegeven bedroeg: 12 weken (10-24) weken (mediaan (P<sub>25</sub>-P<sub>75</sub>)).

Tabel: gehalte aan gechloreerde verbindingen voor moeders die wel/geen borstvoeding gaven bij de deelnemers (20-35j) van de landelijke gemeenten die deelnamen aan de pasgeborenencampagne (2002-2006).

	N	Median	Lower Quartile	Upper Quartile
<b>geen borstvoeding</b>				
somPCB_vet	106	<b>82.6</b>	57.2	135.1
HCb_VET	102	<b>29.0</b>	18.9	38.5
DDE_VET	106	<b>167.7</b>	106.9	282.3
CALUXBEQ_VET	60	<b>30.7</b>	15.6	48.5
<b>wel borstvoeding</b>				
somPCB_vet	55	<b>87.1</b>	48.4	135.3
HCb_VET	53	<b>35.7</b>	20.6	46.2
DDE_VET	55	<b>166.7</b>	93.8	250.0
CALUXBEQ_VET	39	<b>35.8</b>	21.6	55.2

### Oplossing II: 5 jaar wonen in het gebied laten vallen of verminderen

Binnen het de campagne van het Steunpunt werd opgelegd dat de vrouwen minimum 5 jaar woonden in de landelijke regio. Dit is een redelijke termijn inachtgenomen de halfwaardetijd van de gemeten pollutanten: PCB's: 5-15j; dioxinen/furanen: 4-12j; p,p'-DDE: 9 jaar en HCB: 3-4 j.

In de vragenlijsten van de biomonitoringscampagne 2002-2006 werd geen vraag opgenomen die peilt naar het aantal jaren de deelnemers wonen in het aandachtsgebied. Deze vraag werd wel opgenomen in de extra vragenlijst die werd gestuurd naar een beperkt aantal deelnemers uit het landelijke aandachtsgebied en de Albertkanaalzone in het kader van het DDE-pilootproject van het

Faseplan. Het betreft hier deelnemers uit beide aandachtsgebieden met DDE-bloedwaarden onder de leeftijdsgebonden  $P_{10}$  of boven de leeftijdsgebonden  $P_{90}$ . Bij deze deelnemers kon wel worden nagegaan welke invloed het aantal jaren ze in de landelijke regio woonden, had op de DDE-gehalten in het navelstrengbloed.

*Tabel: aantal jaren wonen in het gebied en de leeftijd van de moeders (20-35j) uit de landelijke gemeenten die respectievelijk een lage ( $<P_{10}$  van Vlaanderen) en hoge ( $>P_{90}$  van Vlaanderen) DDE navelstrengbloedwaarde hadden (M&G pasgeborenen campagne 2002-2006).*

	<b>N</b>	<b>Median</b>	<b>Lower Quartile</b>	<b>Upper Quartile</b>
<b>DDE &lt; <math>P_{10}</math></b>				
Jaren wonen in de regio	21	<b>29</b>	27	30
Leeftijd moeder	21	<b>25.9</b>	23.9	28.9
<b>DDE &gt; <math>P_{90}</math></b>				
Jaren wonen in de regio	17	<b>34</b>	33	36
Leeftijd moeder	17	<b>30.9</b>	28.6	32.7

Moeders uit de hoog blootgestelde groep (DDE >  $P_{90}$ ) woonden significant langer in de landelijke regio (Mann-Whitney U  $p < 0.001$ ) en waren significant ouder (Mann-Whitney U  $p < 0.001$ ). De leeftijd van de moeder en het aantal jaren dat de moeder in de regio woont zijn sterk gecorreleerd met elkaar (corr.coëff. = 0.75), wat maakt dat ze niet afzonderlijk geïnterpreteerd kunnen worden. Bij enkelvoudige regressie was het aantal jaren wonen een significante risicofactor op hoge DDE-waarden, maar wanneer leeftijd en BMI van de moeder ook in het model worden gestopt verdwijnt de significantie en is enkel leeftijd een significante risicofactor op hogere waarden.

### Besluit

Het is nodig om ook de inclusiecriteria te versoepelen om de recluster van 100 moeders in de moedermelkcampagne mogelijk te maken in minder dan 1 jaar tijd. Er zijn twee mogelijkheden die substantieel kunnen bijdragen om de aantallen op te drijven:

- (i) vrouwen die bevallen van tweede kind ook insluiten
- (ii) 5 jaar wonen in het gebied laten vallen

Er zijn geen aanwijzingen op basis van de navelstrengbloed-resultaten van de humane biomonitoring van het eerste Steunpunt (2002-2006) dat pariteit en het aantal weken borstvoeding belangrijke invloedsparameters zijn voor de gemeten gehalten aan gechlloreerde verbindingen in de landelijke regio.

Moeders uit de hoog blootgestelde groep van DDE woonden significant langer in de landelijke regio en waren significant ouder. Echter de leeftijd van de moeder en het aantal jaren dat de moeder in de regio woont waren sterk gecorreleerd met elkaar, wat maakt dat ze niet afzonderlijk geïnterpreteerd konden worden.

Het kan gesteld worden dat het 'verminderen van het aantal jaren wonen' minder gunstig is in vergelijking met het includeren van vrouwen met hogere pariteit, gezien:

- De onderzoeksvraag focust op het opvolgen van de gehalten in de landelijke gemeenten. Hiertoe moeten de deelnemers ook effectief representatief zijn voor deze regio.
- Je niet eenvoudig kan corrigeren voor wonen in een andere regio, gezien de belasting (vermoedelijk) anders is wanneer je van een stedelijk of industrieel gebied komt en ook nog afhangt van de tijd die je in dat gebied woonde. Dit is niet te vatten in een 'variabele'. De

variabelen 'aantal weken borstvoeding ooit gegeven' en pariteit kunnen wel bij de statistische analyse worden meegenomen.

**BIJLAGE B: INFORMATIEBROCHURE EN TOESTEMMINGSFORMULIER**

**BIJLAGE C: VRAGENLIJST**

## BIJLAGE D: ANALYSEMETHODE PERSISTENTE POLLUENTEN

### Analytische methode voor de bepaling van PCBs, OCPs en PBDEs in moedermelk met SPE en GC-MS

Deze methode wordt toegepast om persistente organogehalogeneerde polluenten (POPs), zoals PCB congenen, organochloorpesticiden (OCPs), bv. p,p'-DDE (de belangrijkste metabooliet van p,p'-DDT) en hexachloorbenzeen (HCB), en PBDE congenen, in 5 mL moedermelk te analyseren.

#### **Extractie, opzuivering en analyse van POPs**

POPs worden geëxtraheerd uit moedermelk door middel van vaste-fase extractie (SPE) op OASIS HLB (6 mL, 500 mg) cartouches. Een volume van 5 mL melk is verdund met 10 mL water en daarna zijn de interne standaarden (CB 143, e-HCH, BDE 77, BDE 128 en 13C-BDE-209) toegevoegd. Het mengsel is op de cartouche gebracht. POPs worden weerhouden op de cartouche en worden vervolgens geëluëerd met 10 mL dichloromethaan. Het extract wordt geconcentreerd tot ~0.5 mL en daarna opgezuiverd op 0.5 g zure silica (44% w/w, geconc. zwavelzuur). POPs worden met 8 mL hexaan:dichloromethaan (1:1, v/v) geëluëerd. Het opgezuiverde extract wordt drooggedampt onder stikstof en heropgelost in 80 µL iso-octaan.

Het extract wordt gescheiden van de andere nog aanwezige componenten door middel van gas chromatografie gekoppeld met massaspectrometrie. Voor PCBs, HCB, pp-DDE en pp-DDT, een 25 m × 0.22 mm × 0.25 µm HT-8 capillaire kolom was gebruikt en de massaspectrometer was in electron impact ionisatie (EI) geopereerd. Voor PBDEs en andere OCPs, een 15 m × 0.25 mm × 0.10 µm DB-5 capillaire kolom was gebruikt en de massaspectrometer was in electron capture negative ionisatie (ECNI) geopereerd.

De bovenvermelde procedure is grotten deels gebaseerd op de procedures beschreven in Covaci and Schepens (1); Covaci and Voorspoels (2) en Covaci *et al.* (3) om de simultane extractie en opzuivering van PCBs, OCPs en PBDEs in een enkele run uit te voeren.

De kwaliteitscontrole is gebaseerd op bepalingen van recoveries van analieten en interne standaarden in gespikete melk en water stalen, regelmatige controle van procedureblanco's en succesvolle deelname aan internationale ringtesten (bv. Arctic Monitoric Assessment Program AMAP – 3 maal per jaar, POPs in human serum).

#### **Bepaling van vet percentage**

Een volume van 1 mL moeder melk werd met 4 mL van een mengsel hexaan:diethyleter (1:1) voor 1 min gevortexed. Na scheiding van de 2 fasen, werd de organische fase afgepipetteerd in een getarreeerde proefbuis. De waterige fase werd nog een keer met 4 mL organische mengsel geëxtraheerd. De organische fasen werden gecombineerd en verder drooggedampt onder stikstof. De proefbuizen werden op 100°C voor 1h gehouden en, na afkoeling, werd het gewicht gemeten. De berekening van het vetpercentage was gebaseerd op het gewicht van geëxtraheerde vet en volume van melk.

#### **Analytische karakteristieken**

**Lineariteit en meerbereik.** Voor het concentratiebereik tussen de bepalingsgrens (zie verder) en 10000 pg/mL werden lineaire calibratiecurves gemaakt voor minstens 5 concentraties.

**Herhaalbaarheid.** Deze werd bepaald door een meermaalse analyse van eenzelfde staal op dezelfde dag (n = 3) uit te voeren. Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een gespikete melkstaal met concentraties van individuele componenten die in het werkgebied liggen. De herhaalbaarheid

van de gespikete stalen was < 8 % voor PCBs en OCPs en < 10% voor PBDEs. De analyse is dus herhaalbaar (tolerantiecriteria is 15%).

**Reproduceerbaarheid.** Een gemiddelde concentratie van het werkgebied werd driemaal (zelfde concentratie, verschillende dagen) geanalyseerd. De gemeten concentraties hadden allen een procentuele standaarddeviatie van minder dan 13% en de analyse is dus reproduceerbaar (tolerantiecriteria is 15%).

**Bepalingsgrens (BG).** Gezien dat sommige POPs meetbaar zijn in de blanco's, werd de bepalinggrens (limit of quantification – LOQ) bepaald door de analyse van procedureblanco's (n=8). Als wij de blanco's als de baseline en de SD van blanco's als de ruis beschouwen waarboven ons te meten signaal moet uitkomen, kan de LOQ berekend worden als 3\*SD van de blancowaarden. Dit geeft 99% zekerheid dat het gemeten signaal van het staal afkomt en niet van de blanco. In alle gevallen liggen deze metingen boven de instrumentele LOQ. De BG werd berekend als 20 pg/ml voor elk PCB congener, HCB, en de meeste OCPs, en 50 pg/ml voor pp-DDE, pp-DDD en pp-DDT, welke voldoet aan de concentraties die gemeten moeten worden. Voor PBDEs werd de BG berekend als 2 pg/ml voor elk PBDE congener, behalve 3 pg/ml voor BDE 183 en 20 pg/ml voor BDE 209 die voldoet aan de concentraties die gemeten moeten worden.

**Juistheid.** De juistheid wordt gecontroleerd aan de hand van een gecertificeerde referentie materiaal (CRM 450, PCBs in powder milk). De gemeten concentraties van enkele PCB congenen (CB 118, CB 153, CB 180 en CB 170) weken minder dan 15% af van de gecertificeerde waarden.

**Recovery.** De recovery werd bepaald met gedopeerde melkstalen (1 concentratie, dezelfde dag) die de volledige procedure ondergaan. De recoveries zijn aanvaardbaar (78%-109%) met een standaarddeviatie van minder dan 11%.

**Selectiviteit.** De selectiviteit van de methode is gewaarborgd door: de massspectrometrische detector, de GC kolom, de opzuivering en extractie op OASIS HLB kolom, de opzuivering over een zure silica-kolom, en door de juistheidsbepalingen aan de hand van ringtesten.

#### Referenties:

- (1) Covaci A, Schepens P (2001) Improved determination of selected POPs in human serum by solid phase disk extraction and GC-MS. *Chemosphere*, 43: 439-447.
- (2) Covaci A, Voorspoels S (2005) Optimization of the determination of polybrominated diphenyl ethers in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 827:216-223.
- (3) Covaci A, Hura C, Schepens P (2001) Solid phase disk extraction: an improved method for determination of organochlorine residues in milk. *Chromatographia* 54: 247-252.

## BIJLAGE E: ANALYSEMETHODE CALUX

### Extraction and clean up

Five milliliter of human milk was weighted and mixed with 15 mL of acetone for 2 min in order to denature the proteins. PCDD/Fs, PCBs and other lipophilic compounds were extracted 3 times with 5 mL of hexane by shaking for 2 minutes, followed by centrifuging of the samples for again 2 minutes. The organic solvent phase was dried upon a pre-conditioned celite column, filled with 0.5 g (1.3 cc) of celite and 6.5 g (4.3 cc) of anhydrous sodium sulfate and conditioned with 30 mL of hexane. The hexane fractions containing the milk fat were collected in a glass tube and the celite column was then washed with 15 mL of hexane, which was also collected in the tube. After extraction, the samples were evaporated at 40 °C under a flow of pure air until only the milk fat remained. The amount of fat was weighted and the extract was redissolved in 5 mL hexane and cleaned up on a pre-conditioned multi-layer silica column coupled in series with a carbon column.

Since the matrix of human milk samples is very similar to that of human serum samples, the same protocol was used (Schroijen *et al.*, 2006), but with a higher amount of acid silica due to the higher fat content of milk compared to blood. Briefly, the silica gel column (25 mL) was filled from bottom to top with glass wool, 1.9 g (1.3 cc) sodium sulfate, 6.0 g (2 x 4.3 cc) of 33% (w/w) sulfuric acid silica gel and 1.9 g (1.3 cc) sodium sulfate. The carbon column (10 mL) was filled with glass wool, 0.7 g (0.5 cc) sodium sulfate, 0.34 g (1 cc) X-CARB and 0.7 g (0.5 cc) sodium sulfate. Before loading the sample both columns were rinsed with respectively 45 mL hexane and 5 mL acetone, 20 mL toluene, 10 mL hexane. After sample addition, the glass tube containing the milk fat was rinsed with 4 times 5 mL hexane and finally the column was eluted with 15 mL hexane. The upper acidic silica column was then removed and the carbon column was eluted with 8 mL of a hexane/acetone (90/10) mixture. Because it was observed that this fraction exhibits toxic effects on the cells, it was discarded (Windal *et al.*, 2005b). The coplanar PCBs were eluted from the carbon column with 15 mL of hexane/ethyl acetate/toluene (80/10/10), followed by elution of the PCDD/Fs with 20 mL toluene. The PCDD/F and PCB fractions were evaporated (40 °C) and redissolved in a defined volume hexane. The target compounds are then transferred to 4 µL or 2 µL DMSO by evaporation of the hexane at 40 °C. Finally, respectively 400 µL or 200 µL RPMI medium is added and the mixture is dosed to the cell lines in duplicate (2 wells) or in a single well.

### CALUX bioassay

The CALUX (Chemical Activated Luciferase gene eXpression) assay is a reporter gene mammalian cell bioassay. The recombinant cells used in the bioassay contain a stably transfected AhR-responsive firefly luciferase reporter gene, which responds by the induction of luciferase. The cell line used for the analysis of the dl-PCB en PCDD/F fraction was the sensitive H1L7.5c1 mouse hepatoma cell line, transfected with pGudLuc 7.5 (Denison *et al.*, 2008).

Cell treatment and measurement were based on the protocols described by Windal *et al.* (2005b) and the XDS method 4435 (XDS Method 4435, 2008). Briefly, the cells were grown in cell culture plates containing 15 mL RPMI 1640 supplemented with 8% FCS and 1% penicillin/streptomycin (Gibco, UK). After trypsinizing, the cells were counted and diluted to a concentration of 55 - 65E4 cells per mL. Every well on the 96-well plate was seeded with 200 µL cell suspension in RPMI. After 24 h incubation (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>), 188 µL of a standard solution or sample extract in RPMI with 1% DMSO was added to every well on the plate. After 20 - 24 h incubation, the medium was removed and the wells were rinsed with 75 µL PBS buffer pH 7.4 (Gibco, UK). Then the plate was visually inspected under the microscope in order to evaluate if the extract was toxic to the cells. If not, 50 µL lysis reagent (Promega, USA) was added and the plate was shaken for 5 minutes. After a 10 minute incubation period in the luminometer (Glomax, Promega, USA), 50 µL luciferine reagent

(Promega, USA) was injected and the light output was given in RLU (integration time 3 s, lag time 5.6 s). A four parameter Hill-function was used to fit a sigmoid curve through the standard solutions. The measured luminescence (RLU) of an unknown sample was converted into a bioassay toxic equivalency value (CALUX-BEQ) by comparison of the response of the sample to the sigmoid dose-response curve obtained with 2,3,7,8-TCDD standards. Three quality control (QC) solutions (i.e. a standard solution of TCDD corresponding to a RLU induction of around 50%) and 3 DMSO blanks were added in duplicate to every 96-well plate as an internal control.

The PCB fraction of the sample was redissolved in 1.5 mL hexane and the PCDD/F fraction in 2 mL hexane. One milliliter aliquots of the cleaned-up PCB and PCDD/F fractions were transferred to respectively 200  $\mu$ L and 400  $\mu$ L RPMI with 1% DMSO and dosed to the cell lines (188  $\mu$ L extract per well). For the PCDD/F fraction an additional sample extract (0.8 mL out of 2 mL, dilution factor 2) was transferred to 200  $\mu$ L RPMI with 1% DMSO and dosed to the cell line in a single well. The CALUX-BEQs for the PCBs and the PCDD/Fs were calculated as described above using a 2,3,7,8-TCDD calibration curve. Tests with multiple dilution series (dilution factors 1.2, 1.54, 2, 2.4, 4, 8, 20 and 40) showed that dilution factors 1.5 for PCBs and 2.5 and 4 for PCDD/Fs gave for most samples responses in the working range of the calibration curve.

Denison, M.S., He, G., Baston, D.S., Tsutsumi, T., 2008. Third generation CALUX luciferase reporter vectors – amplification of dioxin responsive elements dramatically increases CALUX bioassay sensitivity and responsiveness. *Organohalogen Compounds*, 70, 772-775.

Schroijen, C., Van Wouwe, N., Sanctorum, H., Goeyens, L., Baeyens, W., 2006. CALUX in small amounts of human serum. *Organohalogen Compounds* 68, 2511-2514.

Windaal, I., Van Wouwe, N., Eppe, G., Xhrouet, C., Debacker, V., Baeyens, W., De Pauw, E., Goeyens, L., 2005b. Validation and interpretation of CALUX as a tool for the estimation of dioxin-like toxicity in marine matrices. *Environ. Sci. Technol.* 39, 1741-1748.

XDS Method 4435, Method for toxic equivalents (TEQs) determinations for dioxin-like chemical activity with the CALUX<sup>®</sup>bioassay, 2008.

**BIJLAGE F: INVLOEDSVARIABLEN**

## BIJLAGE G: MEERVOUDIGE REGRESSIES

Tabel 23: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor PFOS en PFOA in moedermelk (Ingetransformeerd) in  $\mu\text{g/L}$ .

	PFOS	PFOA
Leeftijd	0.0193	0.3176
BMI	0.3733	0.2624
pariteit	0.0124	0.0253
Eieren van eigen kippen	0.0246	
Aantal jaren wonen in landelijk	0.0069	0.0940

Tabel 24: Detailparameters voor de significante parameters voor PFOS in moedermelk (Ingetransformeerd) in  $\mu\text{g/L}$ .

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Leeftijd $\leq$ 26 jaar	-0.0216	0.290	0.9413
Leeftijd 26-28 jaar	-0.518	0.221	0.0268
Leeftijd 28-30 jaar	0.000	.	.
Leeftijd $>$ 30 jaar	-0.653	0.226	0.0075
Eieren van eigen kippen			
nooit	-0.418	0.176	0.0246
Zelden, vaak, altijd	0.000	.	.
Pariteit 1 kind	0.456	0.170	0.0124
Pariteit 2 kinderen	0.000	.	.
Aantal jaren wonen in landelijk			
$<$ 5 jaar	0.429	0.221	0.0628
5 – 20 jaar	-0.428	0.174	0.0206
$\geq$ 20 jaar	0.000	.	.

Tabel 25: Detailparameters voor de significante parameters voor PFOA in moedermelk (Ingetransformeerd) in  $\mu\text{g/L}$ .

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Pariteit 1 kind	0.471	0.199	0.0253
Pariteit 2 kinderen	0.000	.	.

Tabel 26: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor PCB's in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

	PCB74	PCB99	PCB105	PCB118	PCB138	PCB153	PCB156	PCB170	PCB180	PCB183	PCB187	Σ3PCB	Σ6PCB	Σ7PCB
Leeftijd	0.7027	0.6558	0.2027	0.4406	0.5741	0.3133	0.1873	0.2585	0.1917	0.3341	0.7677	0.3431	0.3312	0.3575
BMI	0.9531	0.7857	0.2503	0.4906	0.8842	0.9400	0.8388	0.7424	0.7148	0.8898	0.9400	0.9283	0.9237	0.9407
roker	0.8650	0.6255	0.3886	0.7983	0.2452	0.2626	0.1032	0.1727	0.1928	0.2253	0.1488	0.2282	0.2482	0.2657
melkvet	0.0003	<.0001	0.0063	0.0002	<.0001	<.0001	0.0013	0.0008	0.0002	0.0005	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001
Consumptie vis			0.0789											
Seizoen					0.0180	0.0152		0.0006	0.0050	0.0005	0.0104	0.0115	0.0141	0.0183
Eetgewoonten voor de zwangerschap							0.0735							

Tabel 27: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB74 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.520	0.193	0.0089
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.148	0.195	0.4517
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.443	0.195	0.0264

Tabel 28: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB99 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.658	0.183	0.0006
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.239	0.188	0.2063
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.378	0.185	0.0450

Tabel 29: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB105 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.292	0.211	0.1698
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.115	0.211	0.5894
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.501	0.210	0.0198

Tabel 30: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB118 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.478	0.182	0.0106
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.125	0.184	0.4994
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.471	0.184	0.0125

Tabel 31: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB138 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.530	0.175	0.0036
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.228	0.182	0.2143
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.449	0.177	0.0136
Seizoen herfst	-0.056	0.260	0.8295
Seizoen lente	0.497	0.221	0.0276
Seizoen winter	0.403	0.234	0.0906
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 32: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB153 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.547	0.179	0.0032
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.246	0.185	0.1878
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.475	0.180	0.0105
Seizoen herfst	-0.080	0.265	0.7629
Seizoen lente	0.499	0.225	0.0296
Seizoen winter	0.416	0.239	0.0865
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 33: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB156 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.417	0.1967	0.0376
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.013	0.204	0.9494
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.480	0.195	0.0167

Tabel 34: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB170 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.417	0.188	0.0295
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.196	0.194	0.3172
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.444	0.189	0.0220
Seizoen herfst	-0.157	0.278	0.5755
Seizoen lente	0.676	0.236	0.0055
Seizoen winter	0.496	0.251	0.0521
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 35: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB180 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.465	0.191	0.0175
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.222	0.197	0.2651
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.489	0.192	0.0134
Seizoen herfst	-0.154	0.283	0.5887
Seizoen lente	0.568	0.240	0.0208
Seizoen winter	0.426	0.255	0.0989
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 36: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB183 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.493	0.201	0.0170
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.238	0.208	0.2578
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.459	0.203	0.0270
Seizoen herfst	0.129	0.299	0.6660
Seizoen lente	0.913	0.253	0.0006
Seizoen winter	0.691	0.269	0.0124
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 37: Detailparameters voor de significante parameters voor PCB187 in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.490	0.212	0.0239
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.192	0.219	0.3832
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.629	0.214	0.0044
Seizoen herfst	0.077	0.314	0.8077
Seizoen lente	0.715	0.266	0.0091
Seizoen winter	0.624	0.283	0.0310
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 38: Detailparameters voor de significante parameters voor som 3 merker PCB's in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.524	0.179	0.0047
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.235	0.185	0.2100
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.470	0.181	0.0114
Seizoen herfst	-0.089	0.266	0.7382
Seizoen lente	0.516	0.225	0.0252
Seizoen winter	0.415	0.239	0.0876
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 39: Detailparameters voor de significante parameters voor som 6 merker PCB's in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.515	0.178	0.0053
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.234	0.185	0.2087
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.476	0.180	0.0102
Seizoen herfst	-0.111	0.265	0.6755
Seizoen lente	0.488	0.224	0.0333
Seizoen winter	0.384	0.238	0.1116
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 40: Detailparameters voor de significante parameters voor som 7 merker PCB's in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.508	0.177	0.0056
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.225	0.184	0.2253
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.479	0.179	0.0094
Seizoen herfst	-0.112	0.263	0.6729
Seizoen lente	0.466	0.223	0.0403
Seizoen winter	0.374	0.237	0.1192
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 41: Meervoudig regressiemodel met p-waarden voor organochloorpesticiden (HCB, p,p'-DDE, p,p'-DDT, oxychlordan, transnonachlor en  $\beta$ -HCH) in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg/mL.

	HCB	P,p'-DDE	P,p'-DDT	oxychlordan	Trans-nonachlor	B-HCH
Leeftijd	0.8572	0.1820	0.3180	0.1294	0.4178	0.0191
BMI	0.6576	0.7140	0.8542	0.1768	0.8459	0.2116
roker	0.5962	0.2165	0.4265	0.4128	0.3562	0.3473
melkvet	<.0001	0.0001	0.1099	0.0006	0.0030	0.0015
seizoen		0.0002				
Eetgewoonten voor de zwangerschap	0.0948			0.0240	0.0284	
Consumptie eigen geteelde groenten	0.0307					0.0620
Consumptie melkproducten			0.0348	0.0468		
gewichtsverandering			0.0561			

Tabel 42: Detailparameters voor de significante parameters voor HCB in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.474	0.134	0.0007
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.080	0.140	0.5674
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.355	0.133	0.0094
Consumptie eigen geteelde groenten			
nooit	-0.315	0.129	0.0179
zelden	0.000	.	.
vaak, altijd	-0.109	0.137	0.4287

Tabel 43: Detailparameters voor de significante parameters voor p,p'-DDE in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.775	0.222	0.0009
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.345	0.230	0.1383
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.352	0.224	0.1210
Seizoen herfst	-0.240	0.330	0.4683
Seizoen lente	0.832	0.279	0.0040
Seizoen winter	0.590	0.297	0.0511
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 44: Detailparameters voor de significante parameters voor p,p'-DDT in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/co.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Consumptie melkproducten			
elke dag	0.676	0.313	0.0348
minder dan elke dag	0.000	.	.

Tabel 45: Detailparameters voor de significante parameters voor oxychlordan in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.498	0.163	0.0033
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.200	0.167	0.2341
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.278	0.163	0.0917
Consumptie melkproducten			
elke dag	0.313	0.155	0.0468
minder dan elke dag	0.000	.	.
Eetgewoonten voor de zwangerschap			
gevarieerd	-0.898	0.389	0.0240
Vegetarisch met melk en eieren	0.000	.	.

Tabel 46: Detailparameters voor de significante parameters voor transnonachlor in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.409	0.190	0.0353
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.135	0.194	0.4896
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.400	0.190	0.0389
Eetgewoonten voor de zwangerschap			
gevarieerd	-1.018	0.455	0.0284
Vegetarisch met melk en eieren	0.000	.	.

Tabel 47: Detailparameters voor de significante parameters voor  $\beta$ -HCH in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Leeftijd ≤ 26 jaar	-0.302	0.176	0.0904
Leeftijd 26-28 jaar	0.135	0.150	0.3718
Leeftijd 28-30 jaar	0.000	.	.
Leeftijd > 30 jaar	0.244	0.142	0.0897
Melkvet < 3,3 g	-0.422	0.150	0.0065
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.183	0.153	0.2345
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet ≥ 5,3 g	0.233	0.152	0.1289

Tabel 48: Meervoudig regressiemodel met p-waarden voor PBDE's in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL.

	BDE47	BDE99	BDE100	BDE153	BDE154	BDE209
Leeftijd	0.4980	0.4106	0.1878	0.6896	0.0685	0.1429
BMI	0.0116	0.0218	0.0241	0.8341	0.2071	0.6527
melkvet	<.0001	<.0001	<.0001	0.0002	0.0007	0.0002
Moeder is eerste kind	0.0761					
seizoen						0.0054

Tabel 49: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE47 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
BMI ondergewicht (<18,5)	-1.092	0.515	0.0374
BMI normal gewicht (18,5-25)	-1.096	0.412	0.0096
BMI overgewicht (25-30)	-0.457	0.477	0.3413
BMI zwaarlijvig ( $\geq 30$ )	0.000	.	.
Melkvet < 3,3 g	-1.247	0.263	<.0001
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.686	0.274	0.0147
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.277	0.267	0.3027

Tabel 50: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE99 in moedermelk (In-getransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
BMI ondergewicht (<18,5)	-0.830	0.443	0.0648
BMI normal gewicht (18,5-25)	-0.882	0.354	0.0150
BMI overgewicht (25-30)	-0.368	0.410	0.3728
BMI zwaarlijvig ( $\geq 30$ )	0.000	.	.
Melkvet < 3,3 g	-0.988	0.225	<.0001
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.743	0.230	0.0019
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.351	0.230	0.1315

Tabel 51: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE100 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/87l.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
BMI ondergewicht (<18,5)	-0.836	0.472	0.0803
BMI normal gewicht (18,5-25)	-0.869	0.377	0.0240
BMI overgewicht (25-30)	-0.287	0.436	0.5123
BMI zwaarlijvig ( $\geq 30$ )	0.000	.	.
Melkvet < 3,3 g	-0.905	0.240	0.0003
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.888	0.245	0.0005
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.229	0.245	0.3529

Tabel 52: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE154 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.471	0.196	0.0187
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.370	0.200	0.0686
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.340	0.200	0.0936

Tabel 53: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE153 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/ $\mu$ L.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.691	0.219	0.0024
Melkvet 3,3 – 4,4 g	-0.248	0.224	0.2722
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.406	0.224	0.0740

Tabel 54: Detailparameters voor de significante parameters voor BDE209 in moedermelk (Ingetransformeerd) in pg/mL.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Melkvet < 3,3 g	-0.478	0.239	0.0497
Melkvet 3,3 – 4,4 g	0.179	0.251	0.4778
Melkvet 4,4 – 5,3 g	0.000	.	.
Melkvet $\geq 5,3$ g	0.734	0.245	0.0038
Seizoen herfst	-0.142	0.379	0.7082
Seizoen lente	-0.953	0.326	0.0048
Seizoen winter	-0.581	0.329	0.0827
Seizoen zomer	0.000	.	.

Tabel 55: Meervoudige regressiemodellen met p-waarden voor dioxineachtige PCB's (Calux-waarden) en PCDD/F's (Calux-waarden) in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg BEQ/g vet.

	DL-PCB's	PCDD/F's
Leeftijd	0.3155	0.1595
BMI	0.0872	0.6278
Roker	0.0452	0.0237
gewichtsverandering		0.0031
Eieren van eigen kippen		0.0549

Tabel 56: Detailparameters voor de significante parameters voor dioxineachtige PCB's (Calux-waarden) in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg BEQ/g vet.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Roken voor de zwangerschap			
Ex-roker	0.307	0.121	0.0137
Huidig roker	0.159	0.124	0.2030
Nooit roken	0.000	.	.

Tabel 57: Detailparameters voor de significante parameters voor PCDD/F's (Calux-waarden) in moedermelk (ln-getransformeerd) in pg BEQ/g vet.

Parameter	Estimate	Standard error	p-waarde
Roken voor de zwangerschap			
Ex-roker	0.297	0.118	0.0148
Huidig roker	-0.023	0.122	0.8508
Nooit roken	0.000	.	.
Verandering in gewicht na de zwangerschap			
afgevallen	0.078	0.137	0.5719
bijgekomen	-0.319	0.109	0.0050
niet gewijzigd	0.000	.	.
Consumptie eieren van eigen kippen			
nee	-0.189	0.097	0.0549
ja	0.000	.	.