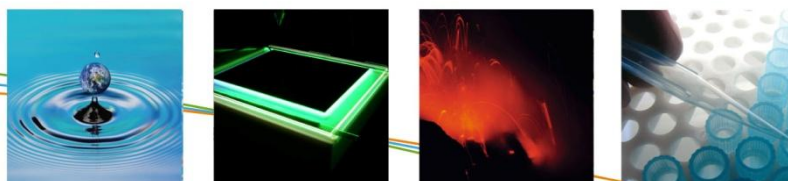


Eindrapport

Optimaliseren van humane biomerkers voor prioritaire hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen

Melissa Paulussen, Michael Houbraken, Elly Den Hond, Pieter Spanoghe en Greet Schoeters

Studie uitgevoerd in opdracht van: Departement Leefmilieu, Natuur en Energie – Lucht, Hinder, Risicobeheer, Milieu & Gezondheid (OL 201000027)
April 2013



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)

SAMENVATTING

De studie 'optimalisatie van humane biomerkers voor prioritaire hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen' is een nieuwe studie die werd opgestart in opdracht van de Vlaamse overheid, departement Leefmilieu, Natuur en Energie.

Via metingen in het milieu, bv. op voedingsmiddelen, in oppervlaktewater, ..., kan een maat bekomen worden voor de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in het milieu. Door te meten in de mens zelf daarentegen, kan de resulterende interne blootstelling in kaart gebracht worden. Dit is mogelijk met behulp van humane biomonitoring, een techniek waarbij de blootstelling aan milieuvervuilende stoffen in het lichaam bepaald kan worden.

Bestrijdingsmiddelen vormen een zeer heterogene groep van producten, en kunnen een diversiteit aan biologische effecten veroorzaken, gaande van mutageniciteit, carcinogeniciteit, neurotoxiciteit, immunotoxiciteit tot ontwikkelings- en hormoonverstorende effecten. In deze studie ligt de focus op de endocrien verstorende eigenschappen, welke reeds vastgesteld werden bij een aantal bestrijdingsmiddelen. Een verstoring van de hormonale balans kan leiden tot een breed gamma aan effecten. Het endocrien systeem heeft immers invloed op alle organen en processen in het menselijk lichaam.

Voor het uitwerken van deze studie werd gestart met de selectie van prioritaire bestrijdingsmiddelen waarvoor een meetbare biomerker beschikbaar is volgens de internationale literatuur (Hoofdstuk 2). Vervolgens werd een kleine veldstudie opgestart om na te gaan of deze biomerkers meetbaar zijn in een testpopulatie uit Vlaanderen, hiervoor werden 11 personen gerekruteerd (Hoofdstuk 3). De geselecteerde biomerkers werden gemeten in de urine van de deelnemers, en hieraan werden vragenlijstgegevens gekoppeld (Hoofdstuk 4). Op basis van deze metingen kunnen dan aanbevelingen geformuleerd worden met het oog op toekomstige biomonitoringscampagnes (Hoofdstuk 5).

1. Selectie van biomerkers

De selectie van prioritaire biomerkers werd opgesplitst in 2 luiken. In het eerste luik werd nagegaan aan welke bestrijdingsmiddelen de Vlaamse bevolking het meest kan worden blootgesteld. We zijn hierbij gestart van een aantal beschikbare databanken zoals de verkoop- of gebruikscijfers en gebruik bij openbare diensten (steden, gemeenten, administratie wegen & verkeer, infrabel). We hebben ook rekening gehouden met de mogelijke blootstellingsroutes voor zover gepaste gegevens ter beschikking waren, zoals het voorkomen van bestrijdingsmiddelen op/in voedingswaren, in drinkwater, regenwater... Aanvullend werd gekeken naar het voorkomen in het milieu, bv. in oppervlaktewater.

Er werd getracht om op basis van de diverse databanken een overzicht te bekomen van de inschatting van blootstelling aan deze middelen. Hierbij werd een lijst opgesteld waarin, voor Vlaanderen, de meest prioritaire middelen voor verder onderzoek werden opgesomd.

Na een eerste selectieronde werden enkel deze bestrijdingsmiddelen weerhouden die het hoogst geklasseerd stonden op basis van gebruik en voorkomen in het milieu en de bestrijdingsmiddelen die geklasseerd werden als hormoonverstorend door het college van experts van de EU:

Glyfosaat	Piperonylbutoxide	Dichloorvos
Flufenacet	Terbutylazine	Dimethoat
Isoproturon	Carbendazim	Diuron
Linuron	Atrazine	Endosulfan
MCPA	Chloorpyrifos	Mancozeb
Metolachloor	Cypermethrine	Simazine

In een tweede luik werd een toxiciteitsprofiel opgemaakt voor elk van deze bestrijdingsmiddelen. Hierbij werd vooral aandacht besteed aan de hormoonverstorende eigenschappen. Als eerste werd rekening gehouden met de classificatie in de lijst met hormoonverstoorders die door de EU werd opgesteld, daarnaast werd verder opzoekingswerk verricht in de recente internationale literatuur. Op basis van de literatuur en de beschikbare informatie uit het Steunpunt Milieu & Gezondheid werden overeenkomstige biomerkers geselecteerd voor de bestrijdingsmiddelen, en werd er gezocht naar informatie over de specificiteit van de biomerkers, de detectielimieten, de meetmethodes en de percentages die gedetecteerd konden worden boven de detectielimiet in internationale studies. Daarnaast werden eventueel beschikbare referentiewaarden uit Vlaamse, nationale of internationale biomonitoringscampagnes opgesteld.

Afweging van al deze informatie leidde uiteindelijk tot de selectie van volgende biomerkers:

Werkzame stof	Type bestrijdingsmiddel	Biomarker
glyfosaat	herbicide	glyfosaat en AMPA in urine
chloorpyrifos	organofosfaat insecticide	TCPy in urine
mancozeb	fungicide	ETU in urine
linuron	herbicide	3,4-DCA in urine

*afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, ETU ethyleenthioureum, 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline

2. Veldwerk

In totaal werden 11 deelnemers gerekruteerd, waarvan de meesten wonen in de fruitstreek in Limburg. Jongeren tussen 14 en 15 jaar oud konden deelnemen. Er werd een informatiebrochure met uitleg over de studie bezorgd aan mogelijke deelnemers via de Scholengroep Onze-Lieve-Vrouw Sint-Truiden, Campus Tuinbouw, via het ProefCentrum Fruitteelt (PCFruit), en via de gemeente Sint-Truiden.

Van de deelnemers werd verwacht dat ze een staal ochtendurine verzamelen, dat ze een vragenlijst invullen op de dag van de urinecollectie, en dat zowel de jongere als de ouders het toestemmingsformulier ondertekenen. De privacy van de deelnemers wordt beschermd door het gebruik van unieke codenummers. De reststalen blijven bewaard in de biobank voor eventuele toekomstige analyses. Er werden 2 filmtickets voorzien voor elke deelnemer als beloning voor hun deelname.

De chemische analyses werden uitgevoerd door laboratoria die voldoende ervaring hebben met het optimaliseren en uitvoeren van biomerkermetingen op menselijke stalen en die voldoen aan de gestelde kwaliteitscriteria. De laboratoria moesten voldoen aan de minimale vereisten van zuiverheid van de recipiënten, informatie hebben over detectielimieten, ervaring hebben met de analyses en/of

eventueel deelnemen aan internationale ringtesten. Validatiedossiers moesten opgesteld worden voor elke meting en teruggekoppeld worden aan VITO. Glyfosaat en AMPA werden gemeten door het Medisch Laboratorium Bremen. ETU en 3,4-DCA werden gemeten door Richrom. TCPy werd gemeten door VITO-MANT, samen met 6 niet-specifieke organofosfaatmetaboliëten, namelijk dimethylfosfaat (DMP), dimethylthiofosfaat (DMTP), dimethyldithiofosfaat (DMDTP), diethylfosfaat (DEP), diethylthiofosfaat (DETP) en diethyldithiofosfaat (DEDTP), zodat ook de blootstelling aan andere organofosfaatpesticiden in kaart gebracht kon worden. In Tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de analysemethode en de kwantificatie- en detectielimieten (LOQ en LOD) voor alle biomerkers.

Tabel 1: Overzicht laboratoriumanalyses voor alle biomerkers

biomarker	lab	methode	LOD	LOQ
glyfosaat	Medisch Laboratorium Bremen	GC-MS/MS	0,05 µg/L	0,2 µg/L
AMPA	Medisch Laboratorium Bremen	GC-MS/MS	0,05 µg/L	0,2 µg/L
TCPy	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DMP	VITO-MANT	LC-MS	1 µg/L	2 µg/L
DMTP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DMDTP	VITO-MANT	LC-MS	1 µg/L	2 µg/L
DEP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DETP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DEDTP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
ETU	Richrom	LC-MS	0,1 µg/L	0,5 µg/L
3,4-DCA	Richrom	GC-MS	0,025 µg/L	0,1 µg/L

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; ETU ethyleenthioureum; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline; LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; GC-MS gass chromatography-mass spectrometry; LC-MS liquid chromatography-mass spectrometry

3. Resultaten

In de studie werden 9 deelnemers opgenomen woonachtig in de fruitstreek, aangevuld met 2 kinderen van VITO-collega's die ook landelijk wonen. Deze 11 deelnemers waren onderverdeeld in 6 jongens en 5 meisjes en volgden allemaal ASO op school. Uit de vragenlijsten bleek dat alle deelnemers in de buurt van groententeelt, fruitteelt, een akker en/of een grasveld woonden. In de gezinnen van 9 van de 11 jongeren werden er recent bestrijdingsmiddelen gebruikt; 3 van hen kwamen in contact met glyfosaat, 2 met linuron.

Een samenvatting van de resultaten van alle gemeten biomerkers wordt getoond in Tabel 2.

Tabel 2: Overzicht beschrijvende statistiek voor alle biomerkers

biomarker	eenheid	N	%>LOQ*	P50(P25-P75)	min-max
glyfosaat	µg/L	11	73%	0,30 (0,16 – 0,40)	<0,2-0,89
glyfosaat	µg/g crt	11	73%	0,19 (0,09 – 0,21)	<0,2-0,57
AMPA	µg/L	11	91%	0,33 (0,26 – 0,60)	<0,2-1,98
AMPA	µg/g crt	11	91%	0,19 (0,16 – 0,28)	<0,2-1,23
TCPy	µg/L	10	0%	/	/
DEP	µg/L	8**	88%	11,04 (4,01-12,26)	<1-22,45
DEP	µg/g crt	8**	88%	5,38 (2,53-6,78)	<1-14,30
DETP	µg/L	10	40%	<1(<1-4,83)	<1-6,34
DETP	µg/g crt	10	40%	<1(<1-2,89)	<1-4,04
DEDTP	µg/L	0***	/	/	/
DMP	µg/L	10	0%	/	/
DMTP	µg/L	10	100%	41,45 (31,80-49,80)	23,0-94,1
DMTP	µg/g crt	10	100%	23,06 (16,31-29,82)	14,34-41,80
DMDTP	µg/L	10	10%	/	/
ETU	µg/L	10	90%	1,11 (0,56-2,88)	<0,5-17,0
ETU	µg/g crt	10	90%	0,70 (0,34-1,83)	<0,5-10,10
3,4-DCA	µg/L	11	91%	0,32 (0,26-0,66)	<0,1-0,93
3,4-DCA	µg/g crt	11	91%	0,24 (0,14-0,32)	<0,1-0,59

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; ETU ethyleenthioureum; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline; N aantal; P percentiel; LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; crt creatinine

* LOQ: zie tabel 1

** voor 2 stalen was er interferentie, dus deze stalen werden niet opgenomen in de beschrijvende statistiek

*** voor alle stalen was er interferentie

Glyfosaat:

De meting van glyfosaat in urine bleek moeilijker dan verwacht. Het Belgische laboratorium dat de meting zou uitvoeren slaagde er niet in om een detectielimiet (LOD) lager dan 5 µg/L te bekomen. Op basis van de literatuur, waar detectielimieten van 0,1 tot 1 µg/L worden gerapporteerd, is dit niet voldoende laag. Ook een ELISA kit (LOD = 7,5 µg/L) bleek onvoldoende gevoelig om de metingen uit te voeren. Uiteindelijk werd samengewerkt met een Duits laboratorium dat recent een methode ontwikkelde voor de gelijktijdige meting van glyfosaat en AMPA (= metaboliet van glyfosaat) in urine via GC-MS/MS met een kwantificatielimiet (LOQ) van 0,2 µg/L voor glyfosaat en 0,2 µg/L voor AMPA. Glyfosaat in de urine lag bij 8 van de 11 deelnemers boven de LOQ (73%); AMPA was detecteerbaar bij 10 van de 11 deelnemers (91%). Indien er één outlier voor AMPA werd weggelaten uit de analyse, was er een goede correlatie tussen de concentratie van glyfosaat en AMPA in de urine.

De niveau's van glyfosaat in urine die werden gemeten in deze studie lagen laag in vergelijking met de literatuur, maar het aantal studies is beperkt. Voor AMPA werden geen referentiewaarden teruggevonden in de literatuur.

Op basis van de vragenlijstgegevens bleek dat er bij 3 van 11 personen in de voorbije week of twee weken glyfosaat gebruikt was door één van de gezinsleden in de buurt van de woning (buitenshuis). De waarden van glyfosaat of AMPA in de urine van deze 3 deelnemers waren echter niet hoger dan bij de andere deelnemers. Mogelijk is de periode tussen gebruik van glyfosaat en meting in de urine te lang, aangezien uit de literatuur is geweten dat glyfosaat en AMPA snel (grootte-orde van uren tot dagen) uit het lichaam worden verwijderd.

Organofosfaatmetabolieten:

De specifieke metaboliet van chloorpyrifos kon voor geen enkele deelnemer gedetecteerd worden (LOQ 1 µg/L), net zoals DMP (LOQ 2 µg/L). Ook voor DMDTP lagen bijna alle waarden onder de LOQ van 2 µg/L, uitgezonderd 1 deelnemer waarvoor een hoge concentratie van 16,95 µg/g creatinine werd opgetekend. DEP lag voor 1 deelnemer onder de LOQ van 1 µg/L, voor de andere 7 deelnemers was DEP wel detecteerbaar (voor 2 stalen was er interferentie). De mediaan voor DEP bedroeg 5,38 µg/g crt (11,04 µg/L). DETP was slechts detecteerbaar bij 4 van de 10 jongeren (LOQ 1 µg/L), de mediaan lag dan ook onder de LOQ. De DMTP gehalten lagen een stuk hoger dan de concentraties van de andere metabolieten en schommelden tussen 14,34 µg/g crt en 41,80 µg/g crt (LOQ 1 µg/L) met een mediaan van 23,06 µg/g crt (41,45 µg/L).

TCPy werd in Vlaamse campagnes nog niet geanalyseerd, maar werd wel gemeten in de Amerikaanse biomonitoringcampagne NHANES. Hier kon TCPy wel gedetecteerd worden met een geometrisch gemiddelde van 1,60 µg/g crt in 1999-2000 en 2,09 µg/g crt in 2001-2002. De detectielimiet was 0,4 µg/L, slechts 0,1 µg/L lager dan in huidige studie wat de verschillen in detectie niet kan verklaren. Mogelijk zijn de deelnemers in deze studie weinig blootgesteld aan chloorpyrifos omdat er gerekruteerd werd in een typische fruitstreek, terwijl chloorpyrifos vooral in de groententeelt wordt gebruikt. Ook het seizoen speelt mogelijk een belangrijke rol (hoogste gebruik in de lente vs. staalname in de zomer). Uit de vragenlijsten kwam geen gebruik van chloorpyrifos of andere organofosfaten naar boven.

De niet-specifieke organofosfaatmetabolieten werden in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid gemeten, en ook in de Amerikaanse en Duitse biomonitoringscampagnes NHANES en GerES. In al deze studies worden min of meer dezelfde metabolieten het frequents gedetecteerd als in huidige studie, maar de mediaanwaarden liggen hier hoger in vergelijking met de overige Vlaamse, Amerikaanse en Duitse studies. In de NHANES studie lagen de detectielimieten algemeen iets lager dan hier.

Uit de vragenlijsten kwam geen specifiek gebruik van organofosfaten naar voor, maar de relatief hoge concentraties van een aantal metabolieten doen vermoeden dat de deelnemers onbewust toch blootgesteld werden aan deze organofosfaatverbindingen.

Mancozeb:

De ETU metaboliet van mancozeb lag voor 1 van de 10 adolescenten onder de LOQ van 0,5 µg/L. De mediaan bedroeg 0,70 µg/g crt (1,11 µg/L), maar wat vooral opviel was de grote variatie tussen de verschillende deelnemers met een range tussen <LOQ en 10,10 µg/g crt (17,0 µg/L).

De LOD van 0,1 µg/L die gehanteerd werd is hetzelfde als de LOD in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid en in NHANES. In het Steunpunt werd ETU enkel gemeten in mengstalen, waardoor de grote interindividuele variabiliteit die we hier oppikken niet waarneembaar was. Uit de vragenlijstgegevens kwam geen specifiek gebruik van mancozeb of maneb (breekt ook af tot ETU) naar voor dat de hoge ETU concentraties kan verklaren.

Linuron:

In tegenstelling tot ETU, was er voor 3,4-DCA weinig interindividuele variatie. De gehalten schommelden tussen <LOQ en 0,59 µg/g crt (0,93 µg/L). Bij 10 van de 11 deelnemers lag de concentratie boven de LOQ van 0,1 µg/L.

Zoals door het laboratorium beloofd, was het mogelijk om 3,4-DCA te analyseren met een detectielimiet die 10 keer lager ligt dan in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid. Indien gemeten zou zijn met dezelfde LOD als in het Steunpunt zou ook hier 3,4-DCA bij geen enkele adolescent gedetecteerd kunnen worden. Uit de vragenlijstgegevens bleek dat 2 deelnemers blootgesteld werden aan linuron 2 weken voor de staalname, maar dit werd niet weerspiegeld in de 3,4-DCA gehalten.

Algemeen:

Als de waarden van alle biomerkers per deelnemer vergeleken worden met de woonomgeving, zien we dat vaak de adolescenten met de hoogste biomerkerswaarden ook het dichtst bij fruitteelt, groententeelt, een akker of een grasveld wonen en vice versa, al blijkt dit niet altijd het geval te zijn.

4. Conclusie en beleidsaanbevelingen**Glyfosaat**

De meting van glyfosaat in urine is niet eenvoudig. Om een kwantificatielimiet te halen die voldoende laag was, werd de meting uitbesteed aan een Duits laboratorium. Naast glyfosaat werd ook AMPA (= metaboliet van glyfosaat) gemeten in de urine. De meting van AMPA in de urine is zeer nieuw, er werden geen vergelijkingswaarden uit bevolkingsstudies teruggevonden in de literatuur.

De resultaten tonen aan dat glyfosaat en AMPA met de huidige methode (LOQ: 0,2 µg/L) detecteerbaar zijn bij respectievelijk 73% en 91% van de deelnemers. De mediane waarde van glyfosaat in de huidige studie lag echter wel aanzienlijk lager dan gemiddelde waarden die gerapporteerd worden in de literatuur. Het is onduidelijk of dit te wijten is aan een reële lage blootstelling, aan een mogelijke selectiebias van de deelnemers of aan de meetmethode. Aangezien er momenteel nog geen gegevens beschikbaar zijn in Vlaanderen, is dit moeilijk te evalueren.

Glyfosaat werd in deze studie als eerste prioriteit geselecteerd op basis van verschillende argumenten: 1) frequent gebruik en voorkomen in het milieu; 2) beperkte biomonitoringsgegevens in de Vlaamse bevolking; 3) toenemende bezorgheid voor gezondheidsrisico's. Op basis van de prioriteitstelling en op basis van de hoge detectiefrequentie, maar relatief lage absolute waarden in de huidige studie, zou het zinvol zijn om een meer uitgebreide studie naar de blootstelling aan glyfosaat uit te voeren in Vlaanderen. Hierbij is het aan te raden om de rekrutering te spreiden over meerdere seizoenen en eventueel over meerder leeftijdsklassen. Om de keuze van het laboratorium te verantwoorden is het noodzakelijk om een meer gedetailleerd validatiedossier te vragen van de gebruikte methode. Aangezien het Duitse laboratorium momenteel deelneemt aan een Europese validatiestudie, is dit misschien mogelijk op relatief korte termijn.

Organofosfaatmetabolieten

TCPy kon bij geen enkele deelnemer gedetecteerd worden, dit kan mogelijk verklaard worden doordat chloorpyrifos voornamelijk in de groententeelt gebruikt wordt en niet in de fruitteelt. Dit proefproject kan echter niet voorspellen of TCPy ook in algemeen Vlaanderen niet gedetecteerd kan worden. In de NHANES studie is de biomarker wel detecteerbaar met een detectielimiet die maar 0,1 µg/L lager ligt dan in deze studie. Met analyses op biobankstalen of stalen van geplande HBM campagne zoals de 3^e generatie van het Steunpunt Milieu en Gezondheid zou achterhaald kunnen worden of TCPy in de algemene Vlaamse populatie wel detecteerbaar is. Men moet dan wel het tijdstip en de plaats van de staalname kennen om de resultaten te kunnen interpreteren.

De detectiefrequentie van de andere organofosfaatmetabolieten was variabel, maar kwam grotendeels overeen met het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid en met de Amerikaanse en Duitse biomonitoringsstudies. In deze studie werd gekozen om TCPy en de niet-specifieke metabolieten te analyseren met eenzelfde methode, hiervoor moest er van GC-MS in het 2^e Steunpunt overgeschakeld worden naar LC-MS. Door eenzelfde methode te gebruiken wordt de kostprijs aanzienlijk verminderd. Indien enkel de niet-specifieke metabolieten gemeten moeten worden, gaat de voorkeur naar de GC-MS methode omdat deze gevoeliger is (indien de procedure blanco goed beheerd kan worden) en er minder storing is van de matrix.

Mancozeb

In het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid werd ETU, de metaboliet van mancozeb (en maneb) gemeten in mengstalen. Nu werd er gemeten in individuele stalen en viel de grote variatie tussen de deelnemers op, wat in mengstalen niet kon opgepikt worden. Door de grote variabiliteit zou het misschien mogelijk zijn om relaties met gezondheidseffecten te onderzoeken in toekomstige biomonitoringcampagnes. Eenzelfde detectielimiet werd gehanteerd als in het Steunpunt en NHANES, deze blijkt te volstaan om ETU voldoende op te pikken.

Linuron

De metaboliet 3,4-DCA kon in deze studie geanalyseerd worden met een detectielimiet die 10 keer verlaagd werd t.o.v. het Steunpunt, waardoor hier de biomerker bij 10 van de 11 deelnemers boven de LOQ lag. Door de ontwikkeling van deze nieuwe methode bestaat de mogelijkheid om in toekomstige campagnes 3,4-DCA mee te nemen als biomerker.

Algemeen

Naast de bestrijdingsmiddelen die in deze studie geselecteerd werden, zijn er uiteraard nog een heleboel andere toxische stoffen die een belangrijke belasting betekenen voor ons lichaam. Hierbij denken we ook aan de lijst met hulpstoffen waarmee bestrijdingsmiddelen geformuleerd worden. Uitgebreid literatuuronderzoek en eventueel methode optimalisaties van biomerkers voor andere hormoonverstorende/toxische bestrijdingsmiddelen en/of hulpstoffen kunnen een belangrijke bijdrage leveren om deze totale blootstelling in kaart te brengen.

Uit dit pilootproject blijkt dat niet alle biomerkers gedetecteerd werden, maar dit betekent niet dat dit in algemeen Vlaanderen ook zo is. Dit kan opgelost worden door te gaan meten op een grote groep personen of door retrospectief te gaan meten op biobankstalen. Voorwaarden hiervoor zijn de bewaring van de stalen op een correcte temperatuur, de beschikbaarheid van vragenlijstgegevens, en de toestemming van het ethisch comité. Bijvoorbeeld voor TCPy dat in deze studie niet detecteerbaar was, zou dit interessant zijn. Omdat we niet weten hoe stabiel biobankstalen zijn, zou een extra budget voorzien kunnen worden om bv. jaarlijks stalen opnieuw te meten om de stabiliteit te controleren.

Een aantal praktische tips voor toekomstige biomonitoringcampagnes zijn o.a. dat er goed nagedacht moet worden over het geschikte laboratorium voor de analyses, en dat de haalbare detectielimiet zeker een beslissende factor moet zijn. Daarnaast is ook het tijdstip van de staalname belangrijk, omdat bestrijdingsmiddelen voornamelijk in lente en zomer toegepast worden; ook de weersomstandigheden (regen, wind) moeten meegenomen worden in de interpretatie. Door product- en merknamen te bevragen, zou het gemakkelijker kunnen zijn om werkzame stoffen waaraan deelnemers blootgesteld werden te achterhalen. Deze vragen blijken niet altijd even goed ingevuld te worden. Mogelijke oplossingen zijn mondelinge bevestigingen of werken met foto's. Ook door gericht vragen over de woonomgeving te stellen kan onbewuste blootstelling aan bestrijdingsmiddelen in kaart gebracht worden. Uit dit proefproject kan niet afgeleid worden of de vragenlijstgegevens sterk overeenkomen met de interne blootstelling. Wel zou in een nieuwe studie met bv. een 100-tal personen onderzocht kunnen worden wat juist de toegevoegde waarde is van

bevragingen *versus* biomerkmelingen en in welke mate blootstellingen door vragenlijsten en/of door biomerkers best kunnen worden gedetecteerd. Juist ingevulde vragenlijsten hebben het potentieel om een beeld te geven over eventuele blootstelling op langere termijn, terwijl de biomerkmelingen een goed beeld kunnen geven van de gehaltes in de Vlaamse populatie als de steekproef groot genoeg is. De toxicokinetiek van de blootstelling zou beter gedocumenteerd moeten worden, dit kan ook door nauwkeurige bevragingen te koppelen aan biomerkmelingen op verschillende tijdstippen na blootstelling. Een belangrijke vraag is ook of de blootstelling die mogelijk kortdurend en sporadisch is, resulteert in enige tekenen van hormoonverstoring. Dit zou kunnen opgespoord worden door gericht onderzoek naar biologische merkers van effecten van blootstelling bijv. door genexpressie analyse of door analyse van epigenetische veranderingen in bloedcellen van blootgestelde individuen.

Waar de focus binnen dit project uiteindelijk eerder lag op bestrijdingsmiddelen die toegepast worden in de landbouw, de zogenaamde gewasbeschermingsmiddelen, is het voor toekomstig onderzoek tevens belangrijk meer aandacht te hebben aan biociden. Bestrijdingsmiddelen als houtbeschermende verf, anti-vlooi- en luizenmiddelen, anti-muggenspray... Verwacht wordt dat de binnenshuisblootstelling aan deze middelen veel hoger is dan aan middelen binnen landbouwkundig gebruik.

INHOUD

HOOFDSTUK 1. Inleiding	7
1.1. Bestrijdingsmiddelen	7
1.2. Wettelijk kader voor hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen	9
1.3. Doel van de studie	10
HOOFDSTUK 2. Selectie biomerkers	11
<i>Deel I: Rangschikking naar gebruik en voorkomen in het milieu</i>	<i>11</i>
2.1. Blootstelling van de mens aan bestrijdingsmiddelen	11
2.2. Blootstelling van het milieu aan bestrijdingsmiddelen	12
2.3. Productie en gebruik van bestrijdingsmiddelen	12
2.3.1. Landbouwkundig en particulier gebruik van gewasbeschermingsmiddelen	12
2.3.2. Gebruik van hulpstoffen in gewasbeschermingsmiddelen	14
2.3.3. Particulier gebruik van biociden	16
2.3.4. Gebruik gewasbeschermingsmiddelen door openbare instanties	17
2.4. Humane blootstelling aan bestrijdingsmiddelen	19
2.4.1. Bestrijdingsmiddelen in de voeding	19
2.4.2. Bestrijdingsmiddelen in het drinkwater	22
2.4.3. Bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater	23
2.4.4. Bestrijdingsmiddelen in het regenwater	25
2.5. Samenvatting en besluit	26
<i>DEEL II: Toxicologische informatie & beschikbaarheid van biomerkers</i>	<i>29</i>
2.6. Glyphosaat	30
2.7. Flufenacet	34
2.8. isoproturon	35
2.9. Linuron	36
2.10. 4-chloro-2-methylfenoxo azijnzuur (MCPA)	39
2.11. metolachloor	41
2.12. Piperonyl butoxide	42
2.13. terbutylazine	43
2.14. Carbendazim	44
2.15. Atrazine	46
2.16. Chloorpyrifos	48
2.17. cypermethrine	53
2.18. Dimethoat	57
2.19. Dichloorvos	61
2.20. Diuron	62
2.21. Endosulfan	64

2.22. <i>Mancozeb</i>	65
2.23. <i>Simazine</i>	68
<i>Deel III: conclusie selectie bestrijdingsmiddelen</i>	69
HOOFDSTUK 3. Veldwerk	74
3.1. <i>Selectie en rekrutering van de deelnemers</i>	74
3.2. <i>Studieprotocol</i>	75
3.3. <i>laboratoriumanalyses</i>	75
3.3.1. <i>Glyfosaat</i>	76
3.3.2. <i>TCPy en andere organofosfaat metabolieten</i>	77
3.3.3. <i>ETU</i>	78
3.3.4. <i>3,4-DCA</i>	78
3.4. <i>Statistische analyse</i>	79
HOOFDSTUK 4. Resultaten	80
4.1. <i>Rekrutering</i>	80
4.2. <i>Beschrijving van de onderzoekspopulatie</i>	80
4.3. <i>Glyfosaat</i>	83
4.4. <i>Organofosfaat-metabolieten</i>	87
4.5. <i>Mancozeb</i>	95
4.6. <i>Linuron</i>	97
4.7. <i>Samenvatting resultaten</i>	99
HOOFDSTUK 5. Conclusie en beleidsaanbevelingen	101
5.1. <i>Glyfosaat</i>	101
5.2. <i>TCPy en andere organofosfaatmetabolieten</i>	102
5.3. <i>Mancozeb</i>	102
5.4. <i>Linuron</i>	103
5.5. <i>Laboratoriumanalyses</i>	103
5.6. <i>Blootstelling</i>	105
5.7. <i>Biobank</i>	106
5.8. <i>Praktische tips voor de toekomst</i>	106

LIJST VAN FIGUREN

Figuur 1: MRL overschrijdingen van producten geproduceerd in België	22
Figuur 2: Bestrijdingsmiddelen in regenwater te Gent en Oostende (1997-2008)	25
Figuur 3: Concentratie glyfosaat per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarden van drie deelnemers lagen onder de LOQ (0,2 µg/L) .	83
Figuur 4: Concentratie AMPA per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarden van drie deelnemers lagen onder de LOQ (0,2 µg/L) .	84
Figuur 5: Correlatie tussen glyfosaat in urine (µg/g creatinine) en AMPA in urine (µg/g creatinine). Links: alle 11 deelnemers; rechts: 10 deelnemers, na exclusie van 1 outlier voor AMPA	85
Figuur 6: Concentratie DEP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarde voor één deelnemer lag onder de LOQ (1 µg/L) .	87
Figuur 7: Concentratie DETP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarde voor 6 deelnemers lag onder de LOQ (1 µg/L).	88
Figuur 8: Concentratie DMTP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder).	89
Figuur 9: Concentratie ETU per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder)	95
Figuur 10: Concentratie 3,4-DCA per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder)	97

LIJST VAN TABELLEN

Tabel 1: Overzicht laboratoriumanalyses voor alle biomerkers	V
Tabel 2: Overzicht beschrijvende statistiek voor alle biomerkers	VI
Tabel 3: Top dertig van de meeste verkochte werkzame stoffen in België in 2009	13
Tabel 4: Top dertig van de meeste gebruikte (kg) hulpstoffen in bestrijdingsmiddelen in België (2003)	14
Tabel 5: R-zinnen en retributiepunten: voorbeeld retributiewaarden en toegepast voorbeeld op één component (isoforon)	15
Tabel 6: Lijst met dertien hulpstoffen geselecteerd op basis van blootstelling en gevaar	16
Tabel 7: Top dertig van chemische stoffen gebruikt in biociden aanwezig op de Belgische markt in 2010.	17
Tabel 8: Top dertig meest gebruikte werkzame stoffen door openbare instanties op basis van gebruik (kg) in 2010.	18
Tabel 9: Aantal gedetecteerde bestrijdingsmiddel en overschreden MRL's voor de verschillende voedingsproducten in 2010. Het percentage tegenover het totaal is eveneens weergegeven.	19
Tabel 10: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op granen	20
Tabel 11: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op fruit en noten	20
Tabel 12: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op infusies	20
Tabel 13: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op groenten	21
Tabel 14: Top vijf van de chemische stoffen die teruggevonden worden op plantenoliën	21
Tabel 15: Resultaten van de 18 individuele bestrijdingsmiddelen en metabolieten	23
Tabel 16: Top dertig van de meeste voorkomende bestrijdingsmiddelen en metabolieten in oppervlaktewater in België in 2010	24
Tabel 17: Lijst van vijfendertig chemische stoffen die als prioritair zijn aangeduid. Er is aangegeven welke hormoonverstorende status de stof heeft volgens de Europese Commissie.	27
Tabel 18: Internationale referentiewaarden voor glyfosaat	32
Tabel 19: overzicht glyfosaat	33
Tabel 20: overzicht flufenacet	34
Tabel 21: overzicht isoproturon	35
Tabel 22: Vlaamse waarden in mengstalen voor 3,4-DCA, DCPU en DCPMU	37
Tabel 23: Internationale referentiewaarden voor 3,4-DCA	38
Tabel 24: overzicht linuron	38
Tabel 25: overzicht MCPA	40
Tabel 26: overzicht metolachloor	41
Tabel 27: overzicht piperonyl butoxide	42
Tabel 28: overzicht terbuthylazine	43
Tabel 29: overzicht carbendazim	45
Tabel 31: Internationale referentiewaarden voor atrazine en metabolieten	47
Tabel 30: overzicht atrazine	47
Tabel 32: Vlaamse referentiewaarden voor DEP en DETP	50
Tabel 33: Internationale referentiewaarden voor DEP, DETP en TCPy	50
Tabel 34: overzicht chloorpyrifos	52
Tabel 35: Vlaamse waarden in mengstalen gemeten voor metabolieten van pyrethroïde pesticiden	54
Tabel 36: Internationale referentiewaarden voor pyrethroïde metabolieten.	55
Tabel 37: overzicht pyrethroïden	56
Tabel 38: Vlaamse referentiewaarden voor DMP, DMTP en DMDTP	58
Tabel 39: Internationale referentiewaarden voor DMP, DMTP en DMDTP	59
Tabel 40: overzicht dimethoat	60
Tabel 41: overzicht dichloorvos	61
Tabel 42: overzicht diuron	63
Tabel 43: overzicht endosulfan	64

Tabel 44: Vlaamse waarden in mengstalen voor ETU	66
Tabel 45: Internationale referentiewaarden voor ETU	67
Tabel 46: overzicht mancozeb	67
Tabel 47: overzicht simazine	68
Tabel 48: Overzicht criteria en prioritering van de verschillende bestrijdingsmiddelen	69
Tabel 49: Overzicht analysebudget	75
Tabel 50: Overzicht laboratoriumanalyse glyfosaat.	76
Tabel 51: Overzicht laboratoriumanalyse TCPy en organofosfaat metabolieten.	77
Tabel 52: Overzicht laboratoriumanalyse ETU.	78
Tabel 53: Overzicht laboratoriumanalyse 3,4-DCA.	79
Tabel 54: Karakteristieken van de onderzoekspopulatie	80
Tabel 55: Beschrijvende statistiek voor glyfosaat en AMPA.	85
Tabel 56: Beschrijvende statistiek voor organofosfaat metabolieten.	90
Tabel 57: Overzicht concentraties organofosfaatmetabolieten per deelnemer (in µg/g creatinine)	91
Tabel 58: Vergelijking analyses niet-specifieke organofosfaatmetabolieten met het 2 ^e Steunpunt Milieu & Gezondheid.	91
Tabel 59: Overzicht organofosfaatmetabolieten	92
Tabel 60: LOD waarden van de NHANES studie in vergelijking met huidige studie uitgedrukt in µg/L	94
Tabel 61: Beschrijvende statistiek voor ETU.	96
Tabel 62: Beschrijvende statistiek voor 3,4-DCA.	98
Tabel 63: Vergelijkend overzicht biomerkers* in µg/g creatinine	99
Tabel 64: Overzicht van de woonomgeving per deelnemer uitgedrukt in de afstand t.o.v. de woonplaats van de deelnemer	100

LIJST VAN AFKORTINGEN

2-AB	2-aminobenzimidazole
2-MCP	2-methyl-4-chlorofenol
3-PBA	3-fenoxybenzoëzuur
3,4-DCA	3,4-dichloroaniline
5-HBC	methyl-5-hydroxy-2-benzimidazolecarbamaat
ADI	Acceptable Daily Intake
AMPA	aminomethylphosphonic acid
BMI	Body Mass Index
crt	creatinine
DCPMU	3,4-dichlorofenyl-3-methyl urea
DCPU	3,4-dichlorofenyl urea
DCVA	3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropaan carboxylzuur
DCXU	3,4-dichlorofenyl-N-methoxy urea
DCU	3,4-dichlorofenyl urea
DEP	diethylfosfaat
DETP	diethylthiofosfaat
DEDTP	diethyldithiofosfaat
DMP	dimethylfosfaat
DMTP	dimethylthiofosfaat
DMDTP	dimethyldithiofosfaat
DMDC	dimethyldithiocarbamaten
EBDC	ethyleenbisdithiocarbamaten
EFSA	European Food Safety Authority
EPA	Environmental Protection Agency
ETU	ethyleenthioureum
EU	Europese Unie
FAVV	Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen
FOD	Federeale OverheidsDienst
GC-MS	gass chromatography – mass spectrometry
GerES	German Environmental Survey
HMCPA	4-chloro-2-hydroxymethylfenoxy azijnzuur
HPLC	high performance liquid chromatography
IARC	International Agency for Research on Cancer
LC-MS	liquid chromatography – mass spectrometry
LOD	limit of detection – detectielimiet
LOQ	limit of quantification – kwantificatielimiet
MCPA	4-chloro-2-fenoxy azijnzuur
MRL	maximale residulimiet
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
OP	organofosfaat
POEA	polygeëthoxileerd tallow amine
TCPy	3,5,6-trichloro-2-pyridinol
VMM	Vlaamse Milieumaatschappij
WHO	World Health Organization
w.s.	werkzame stof

HOOFDSTUK 1. INLEIDING

1.1. BESTRIJDINGSMIDDELEN

Bestrijdingsmiddelen, ook pesticiden genoemd, zijn chemische of natuurlijke stoffen die gebruikt worden voor de bestrijding van allerlei ongewenste aantastingen (plagen, ziekten, onkruiden) van planten, dieren en materialen. De landbouw speelt een belangrijke rol in de uitstoot van bestrijdingsmiddelen, maar ook huishoudens, industrie en overheid gebruiken aanzienlijke hoeveelheden. We onderscheiden gewasbeschermingsmiddelen en biociden.

Gewasbeschermingsmiddelen worden gebruikt in de landbouwsector ter bescherming en bewaring van planten of plantaardige producten tegen schadelijke organismen of de werking van dergelijke organismen, ter beïnvloeding van de levensprocessen van planten of de bewaring van plantaardige producten en om ongewenste planten of plantendelen te doden. Gewasbeschermingsmiddelen kunnen worden ingedeeld volgens het te bestrijden doelorganisme. Professioneel en particulier gebruik van gewasbeschermingsmiddelen wordt bij wet sinds augustus 2012 opgesplitst, onder andere door andere verpakkingen en gebruiksvolumes. **Biociden** zijn bestrijdingsmiddelen voor gebruik buiten de landbouw en kunnen worden ingedeeld volgens het gebruik als ontsmettingsmiddel, conserveringsmiddel, plaagbestrijdingsmiddel, of andere biociden, zoals weergegeven in Bijlage I. Voor de samenstelling van een biocide kunnen producten worden gebruikt die eveneens kunnen voorkomen in een gewasbeschermingsmiddel.

De **werkzame stof** (w.s.) in de bestrijdingsmiddelen (de stof die het toxische effect in het doelorganisme teweeg brengt) moet geformuleerd worden. Formuleren is het geheel aan werkzaamheden die nodig zijn om een werkzame stof in een vorm (vloeibaar, poeder of granulen) te brengen om praktisch gebruik mogelijk te maken. Hierbij worden vaak verschillende **hulpstoffen** gebruikt om bepaalde eigenschappen van de spuitvloeistof te verbeteren. Er wordt aangenomen dat een werkzame stof niet beter kan werken dan de manier waarop deze geformuleerd is. Hulpstoffen zijn meestal op zich niet werkzaam tegen het doelorganisme, maar verbeteren de efficiëntie van de werkzame stof. De meest gebruikte hulpstoffen zijn surfactantia, buffers, solventen of synergisten.

Bestrijdingsmiddelen worden geproduceerd om in het milieu te brengen en om gewild en gepland een zeker toxisch effect te veroorzaken of de ontwikkeling te beperken bij de doelorganismen. Het is dan ook logisch dat als deze bestrijdingsmiddelen via lucht, water, voeding of bodem ongewild terecht komen bij niet-doelorganismen, ze ook daar een nadelige invloed kunnen uitoefenen. Deze niet-doelorganismen zijn in de eerste plaats de gebruiker zelf (landbouwer, loonsproeier), werknemers, gezinsleden van de gebruiker, niet-professionele gebruikers van bestrijdingsmiddelen en allerlei planten en dieren die zich tijdens of na de behandeling in het veld of de tuin bevinden. Buiten het veld kan het gaan om omwonenden, toevallige voorbijgangers, bodem- en waterleven, insecten, vogels, enz. Bovendien kunnen bepaalde bestrijdingsmiddelen accumuleren in het milieu. Tenslotte kunnen ook de consumenten die residuen binnenkrijgen via de voeding, via inhalatie van partikels in de lucht, of via regen- en drinkwater niet-doelorganismen worden.

Om de consument van groenten en fruit optimaal te beschermen zouden op het ogenblik van de consumptie geen resten van potentieel giftige stoffen aanwezig mogen zijn. In de reële praktijk van de gewasbescherming is deze ideale situatie echter in veel gevallen niet te bereiken omdat vereist wordt dat het gewas tot bij de oogst en ook na de oogst in voldoende mate tegen ziekten en plagen beschermd wordt. Dit impliceert dat middelen nodig zijn die ook bij de oogst nog in bepaalde mate aanwezig zijn of na de oogst bij de bewaring toegepast kunnen worden. Vanwege de officiële instanties wordt dan ook aanvaard dat dergelijke, uit praktisch oogpunt onvermijdelijke residu's,

aanwezig zijn binnen bepaalde grenzen, die uitgedrukt worden in 'residutoleranties' (MRL of Maximum Residu Limiet).

Bestrijdingsmiddelen zijn een zeer heterogene groep van chemische stoffen en kunnen dus ook diverse biologische effecten uitoefenen, waaronder mutageniciteit, carcinogeniciteit, neurotoxiciteit, immunotoxiciteit en ontwikkelings- en hormoonverstoring. Van verschillende pesticiden werd reeds aangetoond dat ze reproductieve en endocrien versturende eigenschappen bezitten. In de natuur vertonen bepaalde diersoorten een verminderde vruchtbaarheid, een vervrouwelijking van de mannetjesdieren en verstoringen in de seksuele identiteit. In deze studie ligt de focus op de endocrien versturende eigenschappen, welke reeds vastgesteld werden bij een reeks bestrijdingsmiddelen. Een verstoring van de hormonale balans kan leiden tot een breed gamma aan effecten. Het endocrien systeem heeft immers invloed op alle organen en processen in het menselijk lichaam. De Europese Unie (EU) doet al jaren onderzoek naar hormoonversturende chemicaliën en publiceerde daarbij al verschillende lijsten met mogelijks en bewezen hormoonversturende verbindingen (zie kaderstuk). Voor de evaluatie rond endocriene verstoring wordt in de huidige studie gebruikt gemaakt van deze prioriteitenlijst opgesteld door het college van experts van de EU.

Ontwikkeling van een prioriteitenlijst van chemische stoffen die mogelijk een hormoonversturende werking hebben door de Europese Commissie

Voor het opstellen van deze lijst van endocriene verstoorders werd vertrokken van een lijst met 564 chemicaliën waarvan door diverse organisaties of in publicaties en rapporten gesuggereerd werd dat zij hormoonversturende kenmerken bezitten. Een eerste evaluatie leverde een werklĳst op van 553 chemische stoffen. Vertrekkende van deze lijst werden tussen 2000 en 2006 vier studies (BKH-2000, RPS-BKH-2002, WRC-NCF-2002 en DHI-2006) uitgevoerd voor de identificatie en evaluatie van het hormoonversturende vermogen van deze chemische stoffen.

Deze evaluatie gebeurde in 3 stappen: (1) selectie op basis van productievolume en persistentie van de stof, consumptiepatronen en range van concentraties in het milieu; (2) selectie op basis van de evidentie van het hormoonversturend vermogen (wetenschappelijke literatuur); (3) beoordeling van het blootstellingsgevaar voor mensen en in het wild levende dieren. Gebaseerd op de eerste twee criteria werden de chemische stoffen onderverdeeld in 3 categorieën:

- categorie 1 (194 chemische stoffen): er is evidentie van hormoonversturend vermogen (tenminste 1 *in vivo* studie);
- categorie 2 (125 chemische stoffen): potentiëel hormoonversturend vermogen (bv. *in vitro* data);
- categorie 3 (109 chemische stoffen) wordt onderverdeeld in categorie 3a (geen wetenschappelijke basis voor inclusie) en categorie 3b (onvoldoende wetenschappelijke gegevens beschikbaar).

Voor stoffen van categorie 1 werd tevens het blootstellingsgevaar geschat op basis van de verwachte blootstelling voor mensen en in het wild levende dieren. Voor 169 stoffen uit categorie 1 en 2 bestaat er reeds een ban of restrictie of behandeling onder de bestaande Europese wetgeving, voor 51 stoffen is er nog geen Europese regelgeving.

De voorlopige prioriteitenlijst is geen definitieve lijst, maar eerder een dynamische werklĳst waarbij, op basis van nieuwe wetenschappelijke gegevens, stoffen kunnen worden toegevoegd of verwijderd. Informatie over de ontwikkeling van deze prioriteitenlijst en de verwante studies kunnen teruggevonden worden via de website van het Directoraat-Generaal Milieu van de Europese Commissie: http://ec.europa.eu/environment/endocrine/strategy/substances_en.htm. De uiteindelijke prioriteitenlijst kan via deze link teruggevonden worden als appendix L in de DHI studie uit 2006. Daarnaast werden de prioritare stoffen opgenomen in een databank waarin een overzicht van de resultaten is opgenomen. Deze databank is vrij beschikbaar via dezelfde website.

1.2. WETTELIJK KADER VOOR HORMOONVERSTORENDE BESTRIJDINGSMIDDELEN

Punt 3.6.5 in Bijlage II van Verordening (EG) nr. 1107/2009 van 21 oktober 2009 stelt duidelijk dat bestrijdingsmiddelen of hulpstoffen met hormoonverstorende eigenschappen niet worden toegelaten:

“Een werkzame stof, beschermstof of synergist wordt slechts goedgekeurd wanneer zij/het overeenkomstig de beoordeling op grond van communautaire of internationale richtsnoeren voor het uitvoeren van proeven of andere beschikbare gegevens en informatie, met inbegrip van een overzicht van de wetenschappelijke literatuur, beoordeeld door de Autoriteit, niet wordt geacht hormoonontregelende eigenschappen te hebben die schadelijk kunnen zijn voor de mens, tenzij de blootstelling van mensen aan die werkzame stof, die beschermstof of die synergist in een gewasbeschermingsmiddel in realistische voorgestelde gebruiksomstandigheden te verwaarlozen is, dat wil zeggen dat het middel wordt gebruikt in gesloten systemen of in andere omstandigheden die contact met mensen uitsluiten en waarbij residuen van de werkzame stof, de beschermstof of de synergist in kwestie in levensmiddelen en diervoeders de overeenkomstig artikel 18, lid 1, onder b), van Verordening (EG) nr. 396/2005 vastgestelde standaardwaarde niet overschrijden.”

Daar nog steeds geen wettelijke lijst beschikbaar is die hormoonontregelende bestrijdingsmiddelen aanduidt wordt tot op vandaag Verordening (EG) nr. 1272/2008 als referentie gebruikt. Hierdoor worden alle bestrijdingsmiddelen die als kankerverwekkend of toxisch voor de voortplanting beschouwd of ingedeeld worden, als hormoonontregelend geklasseerd.

Ook het gebruik van hormoonverstorende stoffen in biociden is uitgesloten volgens de nieuwe Biocidenverordening. De nieuwe verordening over het gebruik en op de markt brengen van biociden zal Richtlijn 98/8/EC vervangen. De verordening treedt in voege op 1 januari 2013.

Het gebruik van een aantal (potentieel) hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen is echter nog steeds toegelaten en is het onderwerp van diverse onderzoeken.

1.3. DOEL VAN DE STUDIE

Via metingen in het milieu kan een goed beeld verkregen worden van de aanwezigheid van bepaalde bestrijdingsmiddelen in o.a. voeding en oppervlaktewater. Maar door te meten in de mens zelf, via humane biomonitoring, kan de resulterende blootstelling in kaart gebracht worden. Het doel van dit project houdt in om het humane biomonitoringsprogramma met betrekking tot hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen te optimaliseren.

In het eerste luik van deze studie (Hoofdstuk 2) wordt nagegaan aan welke bestrijdingsmiddelen de Vlaamse bevolking het meest kan worden blootgesteld. We zijn hierbij gestart van een aantal beschikbare databanken zoals de verkoop- of gebruikscijfers en gebruik bij openbare diensten (steden, gemeenten, administratie wegen & verkeer, Infrabel). We hebben ook rekening gehouden met de mogelijke blootstellingsroutes voor zover gepaste gegevens ter beschikking zijn, zoals het voorkomen van bestrijdingsmiddelen op/in voedingswaren. Aanvullend werd gekeken naar het voorkomen in het milieu, bv. in oppervlaktewater.

Er werd getracht om op basis van de diverse databanken een overzicht te bekomen van de inschatting van blootstelling aan deze middelen. Hierbij werd een lijst opgesteld waarin, voor Vlaanderen, de meest prioritaire middelen voor verder onderzoek werden opgesomd.

Na een eerste selectieronde worden enkel deze bestrijdingsmiddelen weerhouden die belangrijk blijken te zijn op basis van gebruik of op basis van indicaties van hormoonverstorende eigenschappen. Meer specifiek werden enkel deze bestrijdingsmiddelen geselecteerd die het meest voorkomen (de eerste 10) in de prioriteringslijst naar gebruik en voorkomen in het milieu en de bestrijdingsmiddelen die geclassificeerd werden als hormoonverstorend door het college van experts van de EU. Vertrekkende van deze lijst met 18 bestrijdingsmiddelen werd verder opzoekingswerk verricht rond toxicologische informatie en de beschikbaarheid van biomerkers (hoofdstuk 3) met als doel om prioritaire bestrijdingsmiddelen te selecteren (hoofdstuk 4) om te optimaliseren in een beperkte veldstudie.

HOOFDSTUK 2. SELECTIE BIOMERKERS

DEEL I: RANGSCHIKKING NAAR GEBRUIK EN VOORKOMEN IN HET MILIEU

2.1. BLOOTSTELLING VAN DE MENS AAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

Tijdens en na de toepassing van bestrijdingsmiddelen kunnen verschillende groepen van de bevolking blootgesteld worden. Er wordt onderscheid gemaakt tussen:

- de gebruiker
- de werknemer
- de voorbijgangers/omstaanders
- de omwonenden
- de algemene bevolking

De gebruikers en de werknemers zijn bewust van het gebruik van bestrijdingsmiddelen en kunnen zich op deze manier zo goed mogelijk beschermen. Anders is het voor de omstaanders, omwonenden en de algemene bevolking; deze worden onbewust en ongewild blootgesteld aan lage concentraties bestrijdingsmiddelen.

Mensen kunnen zowel op het werk als in huis en tuin of onrechtstreeks via het milieu aan bestrijdingsmiddelen worden blootgesteld. De mate van blootstelling hangt in sterke mate af van de wijze waarop de bestrijdingsmiddelen worden gebruikt en hoe de bevolkingsgroep er aan wordt blootgesteld. Het is ook mogelijk dat bepaalde mensen gewoon niet in aanraking komen met bepaalde bestrijdingsmiddelen of groepen van bestrijdingsmiddelen, zodat het risico van de blootstelling nihil is.

Onder **orale blootstelling** verstaan we het innemen van bestrijdingsmiddelen via de mond. Het consumptiepatroon en het al of niet voorkomen van residu op de consumptieproducten bepalen hierbij de hoeveelheid van inname van een bepaalde werkzame stof. Naast inname via voeding en drinkwater komt accidentele inname en inname door gecontamineerde handen.

Blootstelling via de ademhaling (inhalatoir) is belangrijk voor gesloten omgevingen (serres en binnenhuistoepassingen), maar minder voor open veld. Blootstelling via de lucht is immers afhankelijk van de vluchtigheid van de middelen. Daarnaast worden de middelen eens verdampt in de lucht zeer sterk door de wind verdund en vrij snel door fotolyse afgebroken. Cijfers betreffende de blootstelling aan bestrijdingsmiddelen in de lucht in Vlaanderen zijn echter niet beschikbaar.

De **blootstelling via de huid (dermaal)** kan beschouwd worden als een belangrijke blootstellingsroute. Vooral de handen, de armen en de benen staan bloot aan bestrijdingsmiddelen via lucht, water en bodem. Hier moet opgemerkt worden dat niet elk contact leidt tot een volledige opname en dat er een **absorptiefactor** voor het transport door de huid in rekening gebracht moet worden.

Het is belangrijk op te merken dat de gebruiker van een product zowel primair als secundair kan blootgesteld worden. De blootstelling van de gebruiker wordt gezien als primaire blootstelling.

Secundaire blootstelling treedt op bij personen die niet zelf toepassen, maar wel met bestrijdingsmiddelen in aanraking komen. De niet-gebruiker, die in dit project op de voorgrond geplaatst wordt, wordt alleen secundair blootgesteld. Primaire blootstelling is steevast hoger dan secundaire blootstelling. Als gevolg van hun specifieke gedrag kunnen specifieke subgroepen van de bevolking (bv. kinderen kruipend op de grond) een hogere secundaire blootstelling ervaren. Bovendien vindt secundaire residentiële blootstelling aan persistente middelen over een veel langere periode dan de primaire blootstelling plaats.

2.2. BLOOTSTELLING VAN HET MILIEU AAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

Om effectief te zijn moeten bestrijdingsmiddelen gedurende een zekere tijd persisteren. Hoe langer hun persistentie echter, hoe groter de kans op transport van een fractie van het toegepaste middel weg van de beoogde plaats van toepassing. Bestrijdingsmiddelen worden verspreid in het milieu door waterstromen, wind en zelfs levende organismen. Bestrijdingsmiddelen kunnen direct grond- en oppervlaktewater contamineren door lekken, afspoeling, uitloging en driftverschijnselen. Ze kunnen tijdens de toepassing ook de atmosfeer binnendringen door verdamping en drift van kleine spuitdruppeltjes die in de lucht blijven hangen. Na toepassing kunnen bestrijdingsmiddelen verdampen van het beoogde oppervlak.

Uiteindelijk kan winderosie ervoor zorgen dat bodempartikels en stof beladen met bestrijdingsmiddelen in de atmosfeer terechtkomen. De verschillende milieucompartimenten waarin bestrijdingsmiddelen terechtkomen zijn water, bodem, lucht en biota.

2.3. PRODUCTIE EN GEBRUIK VAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

Eén manier om de blootstelling aan bestrijdingsmiddelen na te gaan is het gebruik van deze middelen te evalueren. Om dit gebruik in kaart te brengen kan men gebruik maken van verkoopgegevens.

2.3.1. LANDBOUWKUNDIG EN PARTICULIER GEBRUIK VAN GEWASBESCHERMINGSMIDDELEN

Bestrijdingsmiddelen worden het meest gebruikt in landbouwkundige toepassingen. Voor dit onderzoek werd uitgegaan dat de blootstelling in verhouding staat tot de gebruikte hoeveelheid.

We baseren ons op de verkoopcijfers, die de gebruikte hoeveelheden weerspiegelen. Voor de verkoopgegevens voor 2009 werd beroep gedaan op de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid. Een top dertig gerangschikt op de meest verkochte (in kg) bestrijdingsmiddelen werd opgesteld en is in Tabel 3 weergegeven.

Hoeveelheden op zich zijn echter geen indicator van de blootstelling. Er wordt in deze wetenschap steeds rekening gehouden met persistentie, mobiliteit (sorptie) en vluchtigheid. Daarnaast kan de wijze van toepassing de blootstelling in belangrijke mate beperken (bv. zaadbehandeling). Mogelijke blootstellingsroutes zijn inname via de mond (bv. via voeding of drinkwater), inademing en huidcontact.

Tabel 3: Top dertig van de meeste verkochte werkzame stoffen in België in 2009

Werkzame stof (w.s.)	CAS-nummer	Verkochte hoeveelheid (kg w.s.)
Mancozeb	CAS 8018-01-7	1.064.611
Glyfosaat	CAS 1071-83-6	432.144
1,3-Dichloorpropeen	CAS 542-75-6	367.842
Captan	CAS 133-06-2	190.929
Chloormequat	CAS 999-81-5	188.616
Paraffineolie (hoge sulfonering, IN)		172.449
Propamocarb	CAS 24579-73-5	143.652
Zwavel	CAS 7704-34	120.561
Thiram	CAS 137-26-8	119.789
Terbutylazin	CAS 5915-41-3	107.413
Metam-natrium	CAS 144-54-7	107.377
MCPA	CAS 94-74-6	103.396
Geesterde koolzaadolie		103.159
Metamitron	CAS 41394-05-2	87.157
Prosulfocarb	CAS 52888-80-9	85.336
Watervrij ijzersulfaat	CAS 7720-78-7	84.067
Natriumchloraat	CAS 7775-09-9	79.625
Chloorthalonil	CAS 1897-45-6	75.935
Paraffineolie (hoge sulfonering, AD)		71.083
Dimethenamide-P	CAS 87674-68-8	62.983
S-metolachloor	CAS 51218-45-2	60.922
Isoproturon	CAS 34123-59-6	59.836
Chloridazon	CAS 58858-18-7	55.985
Flufenacet	CAS 142459-58-3	53.021
Fenmedifam	CAS 13684-63-4	47.313
Koperhydroxide (CU)		46.210
Aclonifen	CAS 74070-46-5	44.709
Linuron	CAS 330-55-2	42.957
Pendimethanil	CAS 40487-42-1	41.086
Dinatrium-EDTA	CAS 60-00-4	38.472

De aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in en op ons voedsel wordt gemonitord. Zij komen echter in beperkte mate voor in ons voedsel daar deze middelen toegepast worden volgens de goede landbouwpraktijken (GLP). Verder zijn er wettelijk vastgelegde wachttijden tussen de laatste toepassing van bestrijdingsmiddelen en de oogst van een product. In die wachttijden neemt de dosis van het bestrijdingsmiddel op het gewas af. Analytische laboratoria in België verantwoordelijke voor de analyses van bestrijdingsmiddelen op groenten en fruit analyseren het overgrote deel van de gebruikte stoffen. Zij controleren de voedselveiligheid in opdracht van de overheid (FAVV), van de veilingen en van de grootwarenhuizen.

2.3.2. GEBRUIK VAN HULPSTOFFEN IN GEWASBESCHERMINGSMIDDELEN

Een databank van hulpstoffen in de formuleringen van gewasbeschermingsmiddelen werd verkregen via de FOD Volksgezondheid. De verschillende klassen van hulpstoffen die er worden gehanteerd zijn: solvent, aromatisch solvent, emulsifier, surfactant, antioxidant, kleurstof, stabilisator, pH regulator, synergist, anticaking agent, odorant, thickener, defoamer (ontschuimer) en moistener (bevochtiger). De blootstelling van de mens aan hulpstoffen werd bekeken op basis van de gebruikte hoeveelheden in België voor het jaar 2003. De dertig meest gebruikte (in kg) hulpstoffen, gerangschikt op de verkochte hoeveelheden (in kg) werden opgelijst en in Tabel 4 weergegeven. Hierin zijn voornamelijk solventen terug te vinden.

Tabel 4: Top dertig van de meeste gebruikte (kg) hulpstoffen in bestrijdingsmiddelen in België (2003)

Chemische stof	CAS-nummer	Functie
Xyleen (o,m,p-xyleen mengsel)	CAS 1330-20-7	Solvent
Nafta-solventen	CAS 64742-94-5	Solvent
Ethox tallow alkylamine 17eo	CAS 61791-26-2	Surfactant
Lignosulphate, Ca	CAS 8061-52-7	Dispersant
Lignosulphate, Na + bentonite	CAS 8061-51-6	Dispersant
Propylene glycol	CAS 57-55-6	Antifreeze
Isoforon	CAS 78-59-1	Solvent
Cyclohexanone	CAS 108-94-1	Solvent
Polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate	CAS 9005-64-5	Emulsifier
Ethoxylated fatty alcohol	CAS 68131-39-5	Moistener
1(N)-methyl-2-pyrrolidone	CAS 872-50-4	Solvent
Geëthoxyleerde castor olie (40eo)	CAS 61791-12-6	Emulsifier
Dimethyl decanamide	CAS 14433-76-2	Solvent
Sojaboon olie	CAS 8016-70-4	Solvent
Gehydrogeneerde Paraffine wassen	CAS 67742-51-4	Carrier
Ethoxylated C12-14 alcohol, SO4, Na (69%)	CAS 68891-38-3	Moistener
Isopropylamine	CAS 75-31-0	Salification base
Dipropylene glycolmethylether	CAS 34590-94-8	Stabiliser
Dimethylamine	CAS 124-40-3	Salification base
Tributoxy ethyl fosfaat	CAS 78-51-3	Solvent
PO/EO propylene glycol polymer	CAS 9003-11-6	Moistener
Ethoxylated tristyrilphenol 40eo	CAS 99734-09-5	Emulsifier
Calcium dodecylbenzene sulfonate	CAS 26264-06-2	Emulsifier
Lignosulphate, Ca (93%)	CAS 8061-52-4	Thickener
C16-18 ethoxylated propoxylated alcohol	CAS 68002-96-0	Dispersant
PO/EO butylalcohol block copolymeer	CAS 9038-95-3	Emulsifier
Hexamethylene tetramine (methenamine)	CAS 100-97-0	Stabiliser
Methyl oleate mix	CAS 112-62-9	Solvent
Ethoxylated nonylphenol	CAS 26027-38-3	Surfactant
Epoxy sojaboon olie	CAS 8013-07-8	Stabiliser

Uit deze databank werd in functie van een voorgaand project (ADDIT) een selectie van de **meest relevante hulpstoffen gebruikt in de Belgische landbouw** gemaakt. Voor elke klasse van hulpstof is de selectie zowel op basis van **blootstelling als gevaar** gebeurd. Voor de blootstelling werd gekeken naar het gebruik van deze middelen. Voor de interpretatie van het gevaar baseerde het project zich op de R-zinnen per product. Hierbij kende de FOD Volksgezondheid aan elke R-zin een retributiewaarde toe. Hoe groter de retributiewaarde, hoe groter de potentie tot gevaar. De retributiewaarden zijn gehele waarden die minimaal 1 en maximaal 3 bedragen. Hierbij werd opgemerkt dat dergelijke werkwijze slechts één manier was om het gevaar van de chemische verbindingen te kwalificeren, maar niet de enige.

Tabel 5 geeft een voorbeeld van welke R-zinnen hogere waarden kregen toegekend en welke lagere. Het tweede deel van de tabel geeft weer hoe een scheikundige verbinding als isoforon verschillende R-zinnen met een lage retributiewaarde krijgt toebedeeld en op die manier toch aan een totale retributiewaarde van 5 komt.

Tabel 5: R-zinnen en retributiepunten: voorbeeld retributiewaarden en toegepast voorbeeld op één component (isoforon)

R-zin	Betekenis	Retributie-waarden
R20/21/22	Herhaald schadelijk (ademhaling/ huid/ inname)	1
R23/24/25	Acuut toxisch + irreversibel (ademhaling/ huid/ inname)	2
R26/27/28	Zeer toxisch + irreversibel (ademhaling/ huid/ inname)	3
ISOFORON		
R-zin	Betekenis	Retributie-waarden
R21	Schadelijk bij aanraking met de huid	1
R22	Schadelijk bij opname door de mond	1
R36	Irriterend voor de ogen	1
R37	Irriterend voor de ademhalingswegen	1
R40	Onherstelbare effecten zijn niet uitgesloten (carcinogeen klasse 3)	1
TOTAAL RETRIBUTIEWAARDEN		5

Voor de blootstelling werd gebruik gemaakt van de in België gebruikte hoeveelheden van het jaar 2003. Een eindselectie met dertien verschillende chemische verbindingen (zestien verschillende CAS-nummers) werd bekomen in het kader van het ADDIT-project (Tabel 6).

Tabel 6: Lijst met dertien hulpstoffen geselecteerd op basis van blootstelling en gevaar

Emulsifier	CAS-nummer
Ethoxylated styryl phenol	CAS 99734-09-5
Ethoxylated fatty alcohol	CAS 68131-39-5
Ethoxylated isotridecanol	CAS 9046-01-9 en CAS 9043-30-5
Ethoxylated tallow alkyl amine	CAS 68478-96-6
Ethoxylated alkyl phenol (als referentie)	CAS 68415-54-4
Solvent	CAS-nummer
Isoforon	CAS 78-59-1
N-methylpyrrolidon	CAS 872-50-4
γ-butyrolacton	CAS 96-48-0
Xyleen	CAS 1330-20-7
Cyclohexanon	CAS 108-94-1
Dichloormethaan	CAS 75-09-2
Nafta-solventen	CAS 64742-95-6, CAS 64742-94-5, CAS 64742-47-8
Synergist	CAS-nummer
Piperonylbutoxide	CAS 51-03-6

Hulpstoffen worden samen met de bestrijdingsmiddelen voor landbouwkundig gebruik toegepast. De voornaamste blootstelling aan deze hulpstoffen gebeurt dan ook via orale inname, inademing en huidcontact.

2.3.3. PARTICULIER GEBRUIK VAN BIOCIDEN

De Belgische wetgeving maakt een verschil in “bestrijdingsmiddelen voor landbouwkundig gebruik” en “biociden”. Mensen kunnen via huishoudelijk gebruik ook aan deze chemicaliën blootgesteld worden. Voor de verkoopsgegevens van 2010 werd beroep gedaan op de Federale Overheidsdienst Volksgezondheid. Een top dertig van de meest gebruikte chemische stoffen in biociden in 2010 is in Tabel 7 weergegeven.

Middelen die door particulieren zelf gebruikt worden, zijn een belangrijke bron voor blootstelling aan bestrijdingsmiddelen. Hier kan het dermaal contact met bestrijdingsmiddelen hoog zijn door het huishoudelijk gebruik.

Tabel 7: Top dertig van chemische stoffen gebruikt in biociden aanwezig op de Belgische markt in 2010.

Chemische stof	CAS-nummer	Verkochte hoeveelheid (kg)
Creosoot	CAS 8001-58-9	4.459.800
Natriumhypochloriet	CAS 7681-52-9	1.699.677
Waterstofperoxide	CAS 7722-84-1	574.974
Symcloseen	CAS 87-90-1	423.439
Glutaaraldehyde	CAS 111-30-8	402.196
Natriumdichloorisocyanuraat	CAS 2893-78-9	203.977
Koper(II)carbonaat	CAS 12069-69-1	179.823
Natriumdichloorisocyanuraat, gedehydrateerd	CAS 51580-86-0	175.125
Didecyldimethylammoniumchloride	CAS 7173-51-5	151.456
Perazijnzuur	CAS 79-21-0	133.219
BCDMH	CAS 32718-18-6	127.644
Benzalkoniumchloride	CAS 68424-85-1	91.871
DBNPA	CAS 10222-01-2	76.381
Ethanol	CAS 64-17-5	65.117
Boorzuur	CAS 10043-35-3	50.096
Koper(I)oxide	CAS 1317-39-1	48.753
1-propanol	CAS 71-23-8	32.915
Quaternaire ammoniumverbindingen, coco alkyltrimethyl, chloride	CAS 61789-18-2	29.680
Mengsel van 5-chloor-2-methyl-2H-isothiazool-3-on en 2-methyl-2H-iso-thiazool-3-on	CAS 55965-84-9	28.518
Calciumhypochloriet	CAS 7778-54-3	26.520
2-propanol	CAS 67-63-0	24.223
Bis-(N-cyclohexyldiazeniumdioxy) - koper	CAS 312600-89-8	16.529
Broomazijnzuur	CAS 79-08-3	11.843
Maïskolven poeder	CAS 999999-99-4	10.990
Bronopol	CAS 52-51-7	10.471
Sulfurylfluoride	CAS 2699-79-8	9.903
Propiconazool	CAS 60207-90-1	9.712
Quaternaire ammoniumverbindingen, benzyl-C8-18-alkyldimethyl, chloride	CAS 63449-41-2	8.963
Polymerisch betaïne	CAS 214710-34-6	5.500
Glycolzuur	CAS 79-14-1	5.391

2.3.4. GEBRUIK GEWASBESCHERMINGSMIDDELEN DOOR OPENBARE INSTANTIES

Naast landbouwkundig en particulier gebruik is er het gebruik van gewasbeschermingsmiddelen door openbare instanties (bv. steden en gemeenten, en Infrabel). Gebruiksgegevens werden verkregen via de VMM (de Vlaamse Milieumaatschappij) en dateren van 2010. In Tabel 8 zijn de meest gebruikte werkzame stoffen in steden en gemeenten weergegeven. Er is duidelijk te zien dat slechts enkele

producten instaan voor het grootste deel van het gebruik. Zo maken de vijf meest gebruikte producten 90% van de totale hoeveelheid uit.

Tabel 8: Top dertig meest gebruikte werkzame stoffen door openbare instanties op basis van gebruik (kg) in 2010.

Werkzame stof (w.s.)	CAS-nummer	Gebruikte hoeveelheid (kg w.s.)
Glyfosaat	CAS 1071-83-6	11.350
Oxadion	CAS 19666-30-9	2.654
MCPA	CAS 94-74-6	1.297
Diflufenican	CAS 83164-33-4	592
Triclopyr	CAS 55335-06-3	564
2,4-D	CAS 94-75-7	338
Fluroxypyr	CAS 69377-81-7	255
Carbeetamide	CAS 16118-49-3	152
Clopyralid	CAS 1702-17-6	124
Permethrin	CAS 52645-53-1	103
Dichlobenil	CAS 1194-65-6	99
Ammoniumglufosinaat	CAS 77182-82-2	97
Chloorpyrifos	CAS 2921-88-2	87
Pelargonzuur	CAS 67701-09-1	67
Bacillus-thuringiensis-aizowai		62
Dinatrium-EDTA	CAS 60-00-4	39
Flufenacet	CAS 142459-58-3	35
Daminozide	CAS 1596-84-5	31
Chloortoluron	CAS 5545-48-9	26
Paraffineolie (hoge sulfonering, IN)		21
Prochloraz	CAS 67747-09-5	20
Ijzersulfaat	CAS 7720-78-7	20
Mancozeb	CAS 8018-01-7	18
Isoxaben	CAS 82558-50-7	16
Cypermethrin	CAS 52315-07-8	15
Imidaclopryd	CAS 138261-41-3	14
Piperonylbutoxide	CAS 51-03-6	14
Acetamiprid	CAS 135410-20-7	12
Bromadiolone	CAS 28772-56-7	11
Methiocarb	CAS 2032-65-7	11

Steden en gemeenten zijn vaak dichtbevolkt en hier kan, door het intens gebruik van behandelde oppervlakken (zoals verhardingen, parken, speeltuinen) een grote dermale en inhalatoire blootstelling mogelijk zijn. Voorbeelden van blootstellingsroutes zijn het liggen en spelen in een behandeld park en het behandelen van wespennesten bij particulieren thuis.

2.4. HUMANE BLOOTSTELLING AAN BESTRIJDINGSMIDDELEN

Naast data over het gebruik van bestrijdingsmiddelen zijn er data beschikbaar die de effectieve blootstelling aan deze middelen trachten in kaart te brengen. Hierbij zijn gegevens over blootstelling aan residu's in voeding en aan bestrijdingsmiddelen in het drink- en oppervlaktewater de belangrijkste beschikbare data. Hierbij is de blootstellingsroute voornamelijk orale inname en huidcontact.

2.4.1. BESTRIJDINGSMIDDELEN IN DE VOEDING

Voor de beoordeling van de blootstelling aan residu's van bestrijdingsmiddelen op voedingsmiddelen werd naar het voorkomen van deze middelen op voedingsmiddelen en het (eventuele) overschrijden van de maximale residu limiet (MRL) gekeken. Deze gegevens worden jaarlijks door het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen (FAVV) gepubliceerd. Er werden voor het jaar 2010, 2932 stalen van groenten, fruit, granen, dierlijke producten en verwerkte producten (babyvoeding) genomen en op de aanwezigheid van residu's geanalyseerd, dit in het kader van de toepassing van de Europese Verordening (EG) nr. 396/2005.

In Tabel 9 wordt een overzicht gegeven van de voedingsproducten samen met het aantal keer dat een bestrijdingsmiddel werd gedetecteerd in 2010. Er wordt weergegeven hoeveel analyses er in totaal zijn uitgevoerd in de verschillende producten, hoeveel middelen zijn gedetecteerd en of er een overschrijding van de MRL plaatsvond. Hierbij is duidelijk dat bij groenten en fruit de meeste overschrijdingen aangetroffen worden. Belangrijk hierbij is natuurlijk welke bestrijdingsmiddelen gemeten werden en in welke producten. Dit wordt in onderstaande tekst en tabellen toegelicht.

Tabel 9: Aantal gedetecteerde bestrijdingsmiddel en overschreden MRL's voor de verschillende voedingsproducten in 2010. Het percentage tegenover het totaal is eveneens weergegeven.

Voedingsproduct	Totaal aantal analyses	Aantal keer gedetecteerd	Overschreden MRL
Granen	6.960	47 (0.6%)	1 (0.014%)
Fruit en noten	332.636	2.709 (0.8%)	49 (0.015%)
Infusies (vnl. thee)	13.868	110 (0.8%)	16 (0.011%)
Plantenoliën	5.080	12 (0.2%)	0 (0%)
Groenten	491.409	2.504 (0.5%)	253 (0.051%)

→ Detectie van bestrijdingsmiddelen per voedingsproduct

Om een inschatting te maken van de bestrijdingsmiddelen waaraan er een verhoogde blootstelling is via de voeding, kijken we naar de middelen die teruggevonden worden op de voedingsproducten en naar de eventuele overschrijdingen van de MRL. Hiervoor gebruiken we de top tien van producten waarbij residu's aan bestrijdingsmiddelen werden teruggevonden bij granen (Tabel 10), fruit en noten (Tabel 11), infusies (aftreksel van plantendelen, voornamelijk thee) (Tabel 12), groenten (Tabel 13) en een top vijf voor plantenoliën (Tabel 14).

Producten die in België niet zijn toegelaten zijn, zijn gemarkeerd. Niet alle stoffen die gemeten worden, zijn toegelaten in de Belgische landbouw. In landen buiten de EU is het gebruik echter niet altijd verboden. Producten die ingevoerd worden moeten voldoen aan de MRL's.

Tabel 10: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op granen

Chemische stof op granen	CAS-nummer	Aantal genomen stalen	Aantal keer gevonden	Ex MRL
Chloorpropham	CAS 101-21-3	23	2	1
Chloormequat	CAS 999-81-5	23	16	0
Piperonylbutoxide**	CAS 51-03-6	23	5	0
Pirimiphos-methyl*	CAS 29232-93-7	23	5	0
Malathion*	CAS 121-75-5	23	4	0
Glyfosaat	CAS 1071-83-6	7	3	0
Boscalid	CAS 188425-85-6	23	2	0
Chloorpyrifos-methyl	CAS 2921-88-2	23	2	0
Deltametrine	CAS 52918-63-5	23	2	0
Mepiquat	CAS 15302-91-7	9	2	0

* Product in België niet toegelaten om te gebruiken

** Hulpstof in een gewasbeschermingsmiddel

Tabel 11: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op fruit en noten

Chemische stof op fruit en noten	CAS-nummer	Aantal genomen stalen	Aantal keer gevonden	Ex MRL
Chloormequat	CAS 999-81-5	167	25	5
Methomyl*	CAS 16752-77-5	1.045	7	5
Malathion*	CAS 121-75-5	1.253	4	3
Methomyl & Thiodicarb*		1.045	5	3
Dichloorvos*	CAS 62-73-7	993	2	2
Dithiocarbamates*		874	26	2
Esfenvalerate*	CAS 66230-04-4	965	4	2
Spinosad	CAS 168316-95-8	994	46	2
Pyraclostrobin	CAS 175013-18-0	995	141	1
Thiacloprid	CAS 111988-49-9	995	59	1

* Product in België niet toegelaten om te gebruiken

Tabel 12: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op infusies

Chemische stof op infusies	CAS-nummer	Aantal genomen stalen	Aantal keer gevonden	Ex MRL
Fenvalerate*	CAS 51630-58-1	44	6	3
Esfenvalerate*	CAS 66230-04-4	40	6	3
Bifenthrine*	CAS 82657-04-3	44	14	2
Buprofezin*	CAS 69327-76-0	44	5	2
Chlorfenapyr*	CAS 122453-73-0	24	2	1
Clomazon	CAS 81777-89-1	44	2	1
Cypermethrin	CAS 52315-07-8	44	12	1
Fenpropathrine*	CAS 64257-84-7	44	3	1
Imidacloprid	CAS 138261-41-3	44	4	1
Triazofos*	CAS 24017-47-8	44	3	1

* Product in België niet toegelaten om te gebruiken

Tabel 13: Top tien van de chemische stoffen die teruggevonden worden op groenten

Chemische stof op groenten	CAS-nummer	Aantal genomen stalen	Aantal keer gevonden	Ex MRL
Dimethoate	CAS 60-51-5	1524	48	31
Omethoate*	CAS 1113-02-6	1538	42	28
Profenofos *	CAS 41198-08-7	1528	34	25
Carbendazim	CAS 10605-21-7	1203	33	7
Benomyl*	CAS 17804-35-2	810	33	7
Dicofol*	CAS 115-32-2	1461	7	7
Fenvalerate*	CAS 51630-58-1	1305	8	7
Oxadixyl*	CAS 77732-09-3	1499	7	6
Spinosad	CAS 168316-95-8	1405	66	6
Thiametoxam	CAS 153719-23-4	1941	66	6

* Product in België niet toegelaten om te gebruiken

Tabel 14: Top vijf van de chemische stoffen die teruggevonden worden op plantenoliën

Chemische stof op plantenoliën	CAS-nummer	Aantal genomen stalen	Aantal keer gevonden	Ex MRL
Chloorpyrifos	CAS 2921-88-2	33	2	0
Cypermethrine	CAS 52315-07-8	33	4	0
Deltamethrine	CAS 52918-63-5	33	3	0
Endosulfan*	CAS 115-29-7	33	1	0
Piperonylbutoxide**	CAS 51-03-6	33	2	0

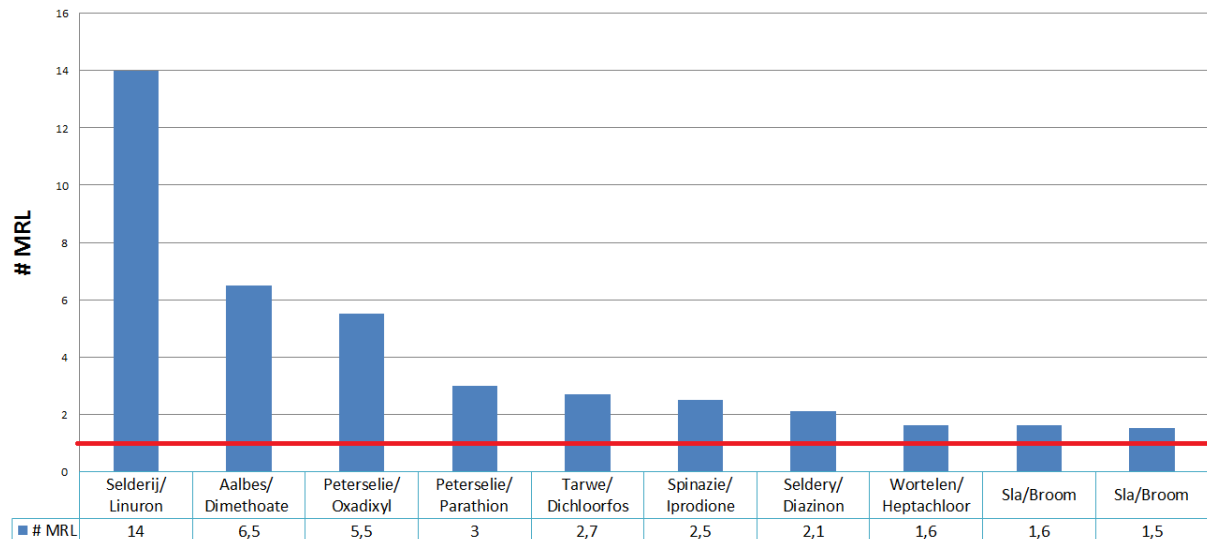
* Product in België niet toegelaten om te gebruiken

** Hulpstof in een gewasbeschermingsmiddel

→ Identificatie bestrijdingsmiddel hoogste overschrijding MRL

Voor de mate waarin de MRL overschreden wordt voor specifieke voedingsproducten die in België geproduceerd worden, wordt verwezen naar Figuur 1. In deze figuur wordt voor de specifieke product-werkzame stof combinatie weergegeven wat de overschrijding was. Producten die de MRL overschrijden, krijgen geen toestemming om op de markt gebracht te worden en dienen vernietigd te worden.

In dit project worden de consumptiepatronen van de specifieke voedingsproducten niet meegenomen. Er wordt van uitgegaan dat een product op een kleine teelt, met lage consumptie, niet in de residu databases zal terug te vinden zijn. Producten die echter vaak terugkomen, zullen ook op veel andere voedingsproducten toegepast worden en zo hoger scoren.



Figuur 1: MRL overschrijdingen van producten geproduceerd in België

2.4.2. BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET DRINKWATER

Naast blootstelling aan bestrijdingsmiddelen via de voeding is blootstelling via het drinkwater eveneens mogelijk. Volgens het besluit van de Vlaamse regering van 13 december 2002 moet drinkwater dat geleverd wordt door de exploitant ten allen tijde vrij zijn van ziekteverwekkende kiemen, en gezond en schoon zijn. Het moet minimaal voldoen aan de Vlaamse vastgelegde kwaliteitseisen. Deze kwaliteitseisen worden in Vlaanderen uitgedrukt in normen voor een groot aantal parameters.

In bijlage 1B van het besluit van de Vlaamse regering van 13 december 2002 is de parameter 'pesticiden' en 'pesticiden totaal' opgenomen. In opmerking 6 wordt gesteld dat enkel die bestrijdingsmiddelen die naar alle waarschijnlijkheid voorkomen in het water dat gebruikt wordt voor de productie van water bestemd voor menselijke consumptie dienen te worden gecontroleerd.

Hoewel opmerking 6 een gebiedsspecifieke benadering nastreeft, worden door de drinkwatermaatschappijen zo'n 18 individuele stoffen gemeten in het kader van hun controleprogramma.

Voor elk van deze individuele pesticiden en metabolieten geldt een normwaarde van 0,1 µg/l. Totaal pesticiden is de som van alle afzonderlijke pesticiden die bij een controleprocedure worden opgespoord en gekwantificeerd. Voor "totaal pesticiden" geldt een normwaarde van 0,50 µg/l. Deze normen zijn geen gezondheidsgebaseerde waarden. Er werd verondersteld dat er geen enkel pesticide of metaboliet aanwezig mag zijn in drinkwater. Hiervoor werd in 1998 als norm de detectielimiet van 0,1 µg/l genomen.

De resultaten van het controleprogramma in 2010 zijn in Tabel 15 weergegeven. Er wordt duidelijk weergegeven dat er nergens sprake is van een normoverschrijding, toch werden enkele producten (atrazine en zijn metaboliet desethylatrazine, tertbutylazine, diuron, isoproturon en metazachlor) gedetecteerd. Echter, volgens de bestaande kennis van de risico's op de gezondheid houdt dit geen risico in voor de gezondheid van de consument. Toch is blootstelling via drinkwater een belangrijke blootstellingsroute aan deze middelen en wordt deze opgenomen in de selectie.

Tabel 15: Resultaten van de 18 individuele bestrijdingsmiddelen en metabolieten

Parameters	Aantal analyses	Norm (µg/l)	Boven detectielimiet		Norm-overschrijdingen		Maximale waarde (µg/l)	Maximale mediaan (µg/l)
			#	%	#	%		
Totaal pesticiden	1371	0,5			0	0	0,37	0,08
Desisopropylatrazine	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
Desethylatrazine	1463	0,1	66	4,511	0	0	0,057	0
Simazine	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
Cyanazine	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
Atrazine	1466	0,1	20	1,364	0	0	0,061	0
Terbutylazine	1467	0,1	32	2,181	0	0	0,041	0
Metamitron	1459	0,1	0	0	0	0	0	0
Metoxuron	1466	0,1	0	0	0	0	0	0
Metabenzothiazuron	1450	0,1	0	0	0	0	0	0
Chloortoluron	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
Diuron	1460	0,1	1	0,068	0	0	0,047	0
Isorproturon	1467	0,1	8	0,545	0	0	0,033	0
Metobromuron	1461	0,1	0	0	0	0	0	0
Linuron	1446	0,1	0	0	0	0	0	0
Chloridazon	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
Bromacil	1435	0,1	0	0	0	0	0	0
Metazachlor	1404	0,1	1	0,071	0	0	0,01	0
Metolachlor	1467	0,1	0	0	0	0	0	0
TOTAAL	26246		128	0,488	0	0		

2.4.3. BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET OPPERVLAKTEWATER

Het oppervlaktewater is een belangrijke blootstellingsroute aan bestrijdingsmiddelen voor de algemene bevolking. De gegevens van bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater werden bekomen bij de VMM en dateren uit het jaar 2010 en werden bekomen in het kader van de kaderrichtlijn water. Een top dertig van de meest voorkomende bestrijdingsmiddelen (percentage gedetecteerd in de verschillende meetplaatsen) in oppervlaktewater werd in Tabel 16 weergegeven. Een overzicht van de stoffen opgenomen in het meetprogramma wordt weergegeven in Bijlage II. Slechts 6 werkzame stoffen (glyfosaat, terbuthylazin, MCPA, chloridazon, flufenacet en linuron) die in de top dertig van de meest gebruikte werkzame stoffen voorkomen worden door de VMM gemeten.

Tabel 16: Top dertig van de meeste voorkomende bestrijdingsmiddelen en metabolieten in oppervlaktewater in België in 2010

Chemische stof	CAS-nummer	Totaal aantal stalen	Aantal meetplaatsen waar de stof minstens 1 maal gedetecteerd werd	Totaal aantal meetplaatsen	Percentage
AMPA	CAS 77527-21-0	1201	131	133	98,5%
Glyfosaat	CAS 1071-83-6	1201	131	133	98,5%
Carbendazim	CAS 10605-21-7	1085	116	133	87,2%
Diuron	CAS 330-54-1	1085	116	133	87,2%
Flufenacet	CAS 142459-58-3	1085	116	133	87,2%
Metolachloor	CAS 51218-45-2	1084	116	133	87,2%
Atrazine	CAS 1912-24-9	1076	115	133	86,5%
Dimethoat	CAS 60-51-5	1065	115	133	86,5%
Pirimicarb	CAS 23103-98-2	1075	115	133	86,5%
Terbutylazine	CAS 5915-41-3	1067	114	133	85,7%
Simazine	CAS 122-34-9	1058	113	133	85,0%
Diazinon	CAS 333-41-5	1025	112	133	84,2%
Isoproturon	CAS 34123-59-6	1040	111	133	83,5%
Dichloorvos	CAS 62-73-7	915	107	133	80,5%
Endosulfan, sulfaat,	CAS 115-29-7	908	98	133	73,7%
Lindaan	CAS 58-89-9	915	97	133	72,9%
Metobromuron	CAS 3060-89-7	884	95	133	71,4%
Metoxuron	CAS 19937-59-8	883	95	133	71,4%
Dicamba	CAS 1918-00-9	876	94	133	70,7%
Lenacil	CAS 2164-08-1	876	94	133	70,7%
Metazachloor	CAS 67129-08-2	875	94	133	70,7%
Propachloor	CAS 1918-16-7	875	94	133	70,7%
Tolclofos-methyl	CAS 57018-04-9	864	94	133	70,7%
Endosulfan, alfa	CAS 33213-66-0	759	83	133	62,4%
Trifluralin	CAS 1582-09-8	757	82	133	61,7%
Endosulfan, beta	CAS 19670-15-6	736	80	133	60,2%
Alachloor	CAS 15972-60-8	745	77	133	57,9%
Linuron	CAS 330-55-2	656	70	133	52,6%
MCPA	CAS 94-74-6	629	67	133	50,4%
Chloorpyrifos-ethyl	CAS 39475-55-3	546	64	133	48,1%

Het voorkomen van bestrijdingsmiddelen in het oppervlaktewater wordt enerzijds verklaard aan de hand van hun mobiliteit en persistentie in het milieu, anderzijds kan dit wijzen op een hoog gebruik. Het belang van oppervlaktewater als mogelijke blootstellingsroute voor de algemene bevolking situeert zich bij het gebruik van oppervlaktewater voor allerlei huishoudelijke toepassingen (bv. planten water geven en stoep schrobben) en meer specifieke blootstellingsscenario's zoals zwemmen in een waterentiteit. Ook kunnen bestrijdingsmiddelen vanuit het water vervluchtigen en wordt oppervlaktewater gebruikt voor de productie van drinkwater. Naast oppervlaktewater wordt eveneens grondwater gebruikt voor de productie van drinkwater. Blootstelling aan bestrijdingsmiddelen in grondwater is, op blootstelling via drinkwater na, echter klein en wordt niet verder opgenomen in het verslag.

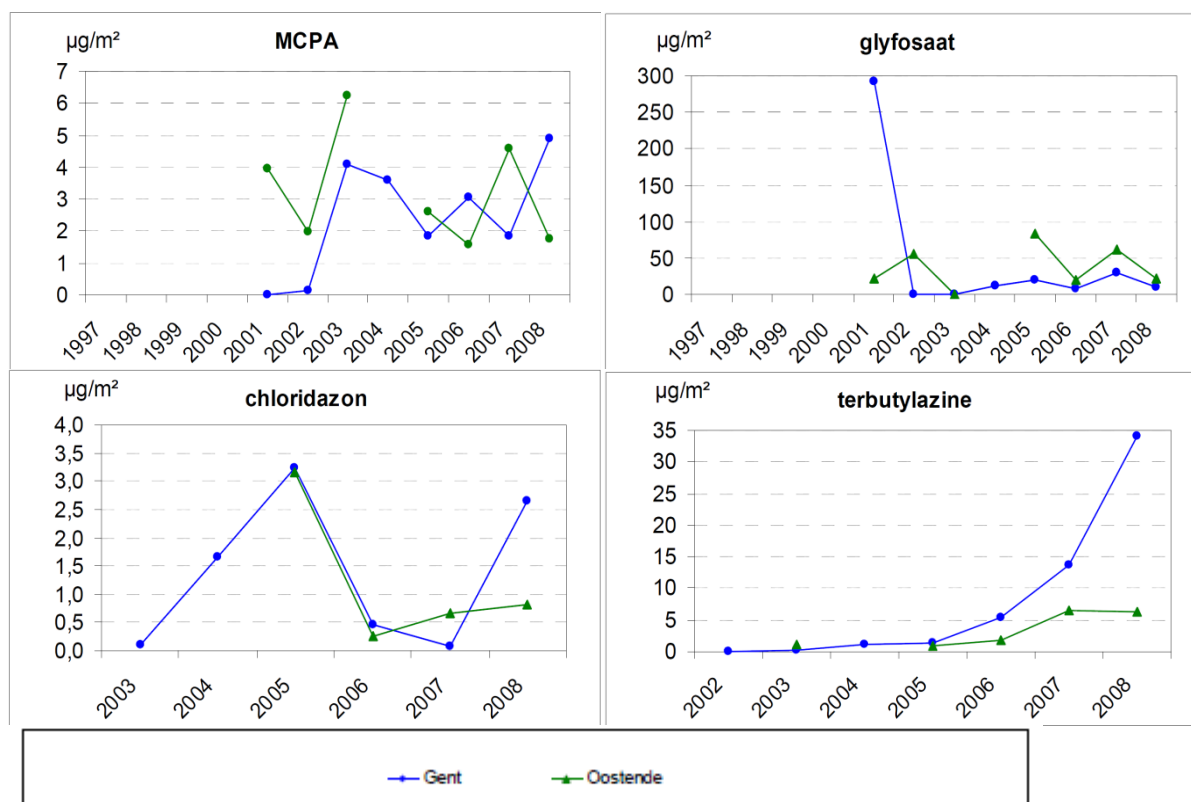
2.4.4. BESTRIJDINGSMIDDELEN IN HET REGENWATER

Bestrijdingsmiddelen in de lucht zijn een maat voor luchtverontreiniging. De concentratie aan bestrijdingsmiddelen in het regenwater zijn hierbij dus een maat voor hun concentratie in de lucht. De VMM onderzocht in de periode 1997-2008 de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen in regenwater op vijf locaties in Vlaanderen: Gent, Oostende, Diksmuide (De Blankaart), Leuven (Kessel-Lo) en Genk (Bokrijk). Gegevens omtrent de concentratie van bestrijdingsmiddelen in de lucht zijn niet voorhanden voor het jaar 2010. Gegeven voor Gent en Oostende voor de periode 1997 – 2008

zijn in



Figuur 2 weergegeven.



Figuur 2: Bestrijdingsmiddelen in regenwater te Gent en Oostende (1997-2008)

2.5. SAMENVATTING EN BESLUIT

De oefening van het wegen van de verschillende routes valt buiten het kader van dit project. Er werd gekozen voor een vereenvoudigde aanpak waarbij de waarde van de verschillende databases gelijk werd beschouwd. Er kan inderdaad over nagedacht worden welke route van blootstelling voor de doorsnee bevolking de belangrijkste zou kunnen zijn. Zo lijkt de consumptiedatabank doorslaggevend. Daarnaast mag echter niet uit het oog verloren worden van zodra zowel professionelen als particulieren de producten zelf gaan toepassen, dat zij op dat moment met veel hogere hoeveelheden van bestrijdingsmiddelen in aanraking komen. Daar waar metingen van residu's in voeding nauwelijks positieve (97,4 % van stalen in overeenstemming met de wettelijke vastgelegde MRL (EFSA, 2012)) stalen opleveren, is blootstelling van de gebruiker, werknemer, omwonende en voorbijganger veel belangrijker (BROWSE).

De verkregen databanken zijn heel divers (MRL overschrijdingen, verkoopgegevens (kg w.s.), concentraties in drink- en oppervlaktewater ($\mu\text{g/l}$)) waardoor rechtstreeks vergelijken van databanken eerder onmogelijk is. Om dit te omzeilen werden de middelen die in de specifieke databanken voor de grootste blootstelling zorgden, opgelijst. De verschillende lijsten werden met elkaar vergeleken en middelen die verschillende keren voorkomen in de voorgaande lijsten werden geselecteerd. Dit resulteert in een lijst met vijfendertig middelen die minstens in twee lijsten voorkomen.

Tabel 17 stelt deze lijst van producten voor. In de tabel zijn er voornamelijk werkzame stoffen terug te vinden, dit omdat er minder gegevens over hulpstoffen beschikbaar zijn (geen metingen in voedingsproducten of oppervlaktewater). In Richtlijn nr. 91/414/EEC werden hulpstoffen als inerte verbindingen beschouwd. In de nieuwe Europese Verordening (EG) nr. 1107/2009 spelen de hulpstoffen een grotere rol. Hulpstoffen worden echter algemeen minder onderzocht op basis van detectie in het milieu (blootstelling) en gevaar. Ook worden er verbindingen gebruikt die ook andere toepassingen hebben (industriële) of inert zijn (kwartszand of maïsolie) en bijgevolg niet zijn opgenomen in het verslag.

In het project worden alleen producten die nog steeds toegelaten zijn voor gebruik meegenomen, tenzij ze persistent blijken te zijn. De toelatingen van gewasbeschermingsmiddelen kunnen worden nagegaan op fytoweb (<http://www.fytoweb.fgov.be>). De producten die niet meer toegelaten zijn, zijn in Tabel 17 cursief en in het vet aangeduid.

De beoordeling van de EU rond mogelijk endocrien verstorende eigenschappen (zie kaderstuk inleiding) wordt eveneens weergegeven in Tabel 17.

Tabel 17: Lijst van vijfendertig chemische stoffen die als prioritair zijn aangeduid. Er is aangegeven welke hormoonverstorende status de stof heeft volgens de Europese Commissie.

Chemische stof	CAS-nummer	Hormoon verstorende eigenschappen			Gebruik bestrijdingsmiddelen	Blootstelling mens
		Cat 1 Cat 2 Cat 3(a,b) / (geen data)			1 = Landb. gebruik 2 = Hulpstof 3 = Op. instanties 4 = Biociden	5 = Voeding 6 = Drinkwater 7 = Opper. Water
		Human health	Wildlife	Overall		
Glyfosaat	CAS 1071-83-6	Cat 3a	Cat 3b	Cat 3a	1, 3	5, 7
Flufenacet	CAS 142459-58-3	/	/	/	1, 3	7
Isoproturon	CAS 34123-59-6	/	/	/	1	6, 7
Linuron	CAS 330-55-2	Cat 1	Cat 3	Cat 1	1	6, 7
MCPA	CAS 94-74-6	/	/	/	1, 3	7
Metolachloor	CAS 51218-45-2	/	/	/	1	6, 7
Piperonylbutoxide**	CAS 51-03-6	Cat 3b	Cat 2	Cat 2	2, 3	5
Terbutylazine	CAS 5915-41-3	/	/	/	1	6, 7
Carbendazim	CAS 10605-21-7	Cat 2	Cat 3	Cat 2		5, 7
Atrazine*	CAS 1912-24-9	Cat 1	Cat 2	Cat 1		6, 7
Chloormequat	CAS 999-81-5	/	/	/	1	5
Chloorpyrifos	CAS 2921-88-2	Cat 3a	Cat 3b	Cat 3a	3	5
Chloortoluron	CAS 15545-48-9	/	/	/	3	6
Chloridazon	CAS 58858-18-7	/	/	/	1	6
Cypermethrine	CAS 52315-07-8	Cat 3a	Cat 2	Cat 2	3	5
Dichloorvos*	CAS 62-73-7	Cat 3a	Cat 3b	Cat 3a		5, 7
Dimethoat	CAS 60-51-5	Cat 2	Cat 3	Cat 2		5, 7
Dinatrium-EDTA	CAS 60-00-4			/	1, 3	
Diuron*	CAS 330-54-1	Cat 2	Cat 3	Cat 2		6, 7
Endosulfan, sulfaat,*	CAS 115-29-7	Cat 2	Cat 2	Cat 2		5, 7
Ijzersulfaat	CAS 7720-78-7	/	/	/	1, 3	
Imidacloprid	CAS 138261-41-3	/	/	/	3	5
Mancozeb	CAS 8018-01-7	Cat 1	Cat 3b	Cat 1	1, 3	
Metamitron	CAS 41394-05-2	/	/	/	1	6
Metazachloor	CAS 67129-08-2	/	/	/		6, 7
Metobromuron*	CAS 3060-89-7	/	/	/		6, 7
Metoxuron*	CAS 19937-59-8	/	/	/		6, 7
Simazine*	CAS 122-34-9	Cat 2	Cat 3	Cat 2		6, 7
Cyclohexanon**	CAS 108-94-1	/	/	/	2	
Ethoxylated alcohol**	<i>fatty</i> CAS 68131-39-5	/	/	/	2	
Ethoxylated phenol**	<i>styryl</i> CAS 99734-09-5	/	/	/	2	
Isoforon**	CAS 78-59-1	/	/	/	2	
Nafta-solventen**	CAS 64742-94-5	/	/	/	2	

Selectie biomerkers

<i>N-methylpyrrolidon</i> **	CAS 872-50-4	/	/	/	2
<i>Xyleen</i> **	CAS 1330-20-7	/	/	/	2

* Producten die niet meer toegelaten zijn voor gebruik in de Vlaamse landbouw zijn in het vet weergegeven

** Hulpstoffen die als prioritair worden aanzien in de Vlaamse landbouw zijn cursief weergegeven

DEEL II: TOXICOLOGISCHE INFORMATIE & BESCHIKBAARHEID VAN BIOMERKERS

Niet alle 35 bestrijdingsmiddelen uit Tabel 17 werden opgenomen in het verdere opzoekingswerk. In een eerste selectieronde werden enkel deze bestrijdingsmiddelen weerhouden die belangrijk blijken te zijn op basis van gebruik en voorkomen in het milieu of op basis van indicaties van hormoonverstorende eigenschappen. Meer specifiek werden enkel deze bestrijdingsmiddelen geselecteerd die het meest voorkomen in de prioriteringslijst naar gebruik en voorkomen in het milieu (glyfosaat t.e.m. atrazine) en de bestrijdingsmiddelen die geclassificeerd werden als hormoonverstorend door het college van experts van de EU (zie kaderstuk inleiding). Zo wordt volgende lijst bekomen van 18 bestrijdingsmiddelen:

Glyfosaat	Piperonylbutoxide	Dichloorvos
Flufenacet	Terbutylazine	Dimethoat
Isoproturon	Carbendazim	Diuron
Linuron	Atrazine	Endosulfan
MCPA	Chloorpyrifos	Mancozeb
Metolachloor	Cypermethrine	Simazine

Wat betreft de hulpstoffen wordt enkel piperonyl butoxide weerhouden, de andere hulpstoffen in Tabel 17 werden niet opgenomen in de oplijsting van de EU als hormoonverstorend. Ook in internationale biomonitoringscampagnes worden hulpstoffen tot nu toe niet gemeten.

Een toxiciteitsprofiel wordt opgemaakt voor elk van deze bestrijdingsmiddelen. Hierbij wordt vooral aandacht besteed aan de hormoonverstorende eigenschappen. Als eerste wordt er gekeken naar de classificatie in de lijst met hormoonverstoorders die door de EU werd opgesteld, daarnaast wordt verder opzoekingswerk verricht in de internationale literatuur. Op basis van de literatuur en de beschikbare informatie uit het Steunpunt Milieu & Gezondheid worden overeenkomstige biomerkers geselecteerd voor de bestrijdingsmiddelen, en wordt er gezocht naar informatie over de specificiteit van de biomerkers, de detectielimieten, de meetmethodes en de percentages die gedetecteerd konden worden boven de detectielimiet. Daarnaast worden eventueel beschikbare referentiewaarden uit Vlaamse, nationale of internationale biomonitoringscampagnes opgelijst.

2.6. GLYFOSAAT

Glyfosaat (N-fosfomethylglycine) is een breed spectrum, systemisch herbicide, behorend tot de groep van de fosfonglycines. Glyfosaat is een niet-selectief herbicide en wordt toegepast voor de bestrijding van alle planttypes waar vegetatiecontrole nodig is. Het werkt op een aantal enzyme systemen waardoor glyfosaat het aminozuurmetabolisme inhibeert in de zogenaamde shikimaat pathway. Deze pathway bestaat enkel in hogere planten en micro-organismen, niet in dieren en mensen (Williams et al. 2012). Planten die met glyfosaat behandeld worden, sterven langzaam over een periode van dagen tot weken af. Het wordt verspreid over heel de plant, waardoor geen enkel deel van de plant overleeft. Planten absorberen glyfosaat, daardoor kan het product niet volledig verwijderd worden door wassen of schillen. Er werd reeds aangetoond dat glyfosaat tot 2 jaar in bepaalde voedselmiddelen blijft zitten. Veel gebruikte commerciële producten die glyfosaat bevatten zijn RoundupTM en RodeoTM (EPA 1993, NPIC 2010). Glyfosaat is toegelaten voor gebruik in België (tweede meest verkochte gewasbeschermingsmiddel in België) en is in verschillende formuleringen (fytoweb) op de markt.

Toxiciteit

Blootstelling aan glyfosaat is mogelijk via orale opname, inhalatie of dermaal contact. Het Environmental Protection Agency (EPA, USA) beschouwt glyfosaat als een product met een relatief lage acute toxiciteit (LD50 > 5000 mg/kg, EPA 1993, WHO 1994), al zijn er een aantal glyfosaat producten met een iets hogere acute toxiciteit, vooral wat betreft irritatie van huid en ogen. De World Health Organisation (WHO) en EPA concludeerden verder ook dat glyfosaat niet carcinogeen, mutageen of teratogeen is en niet toxisch voor ontwikkeling en reproductie (EPA 1993, WHO 1994). De Acceptable Daily Intake (ADI) bedraagt 0,3 mg/kg lichaamsgewicht (WHO 2005). In een recente review van Antoniou et al. (2012) werd echter op dezelfde gegevens gebaseerd een lagere ADI afgeleid van 0,1 mg/kg lichaamsgewicht. Zij rapporteren verder ook dat er aanwijzingen zijn van reproductieve en teratogene effecten van glyfosaat.

In een review van Williams et al. (2012) wordt geconcludeerd dat glyfosaat geen invloed heeft op ontwikkeling en reproductie. De gegevens wijzen wel op mogelijke toxische effecten van hulpstoffen die in glyfosaatformuleringen zitten. Er worden steeds meer studies ondernomen die niet glyfosaat alleen onderzoeken, maar de commerciële Roundupformules. Ook bij lagere concentraties dan deze toegepast in de landbouwsector worden aangewijzingen gevonden die wijzen op neurotoxische, teratogene, genotoxische en hormoonverstorende eigenschappen van Roundup. Op basis van recente studies leidden Antoniou et al. (2012) een ADI af van 0,025 mg/kg lichaamsgewicht per dag.

Blootstelling bij mensen zou zeer laag zijn, veel lager dan de orale referentiedosis van 2 mg/kg/dag (EPA 1993, Acquavella et al. 2004, Williams et al. 2012). Verder werd er geen causaal verband gevonden tussen blootstelling aan glyfosaat en respiratoire aandoeningen, diabetes, myocard infarct, reproductieve and ontwikkelingsstoornissen, reumatoïde artritis, schildklieraandoeningen en de ziekte van Parkinson (Mink et al. 2011). Toch werd chronische blootstelling aan glyfosaat in 1999 in verband gebracht met de ontwikkeling van Non-Hodgkin lymfomen bij mensen (American Cancer Society 1999), en pancreas en levertumoren bij ratten. Glyfosaat-gebaseerde herbiciden hebben een cytotoxisch en genotoxisch effect op humane levercellijnen (Gasnier et al. 2009).

hormoonverstorende eigenschappen

Glyfosaat werd door het college van experts van EU opgenomen in categorie 3a, wat betekent dat er geen wetenschappelijke basis is om glyfosaat te klasseren als hormoonverstorend. Er zijn wel studies beschikbaar, maar geen indicaties dat er een endocrien verstorend effect aanwezig is. In de literatuur kunnen echter verscheidene publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden in vitro en bij proefdieren. Dit zijn vaak

recente studies die mogelijk niet meegenomen zijn door de experts van de EU. Wel blijkt uit een aantal studies dat niet zozeer glyfosaat endocrien verstorend werkt, maar wel de hulpstoffen waarmee het product geformuleerd wordt:

- * Op humane levercellijnen werken glyfosaat-gebaseerde herbiciden anti-androgeen en anti-oestrogeen (Gasnier et al. 2009).
- * In lage dosis werd een daling in testosterongehaltes gevonden bij ratten na blootstelling aan een commerciële formulering met glyfosaat (Romano et al. 2010, Clair et al. 2012).
- * Na maternale blootstelling bij ratten vertoonden de mannelijke nakomelingen een verandering in testosteron, oestrogeen en LH concentraties, en in RNA en proteïne expressie in de hypofyse, daarnaast werd een vroegere start van de puberteit vastgesteld (Romano et al. 2012).
- * In een studie uit 2005 bleek dat wat betreft de endocrien verstorende eigenschappen het commercieel product Roundup, dat glyfosaat bevat, meer toxisch is dan glyfosaat alleen (Richard et al. 2005).
- * Een verandering van oestrogeen-gerelateerde genen werd vastgesteld in humane cellijnen (Hokanson et al. 2007).
- * Na maternale blootstelling aan RoundupTM bij ratten vertoonden de mannelijke nakomelingen een daling in de spermahoeveelheid en productie, meer abnormaal sperma, en een daling in testosteron tijdens de puberteit. Bij vrouwelijke nakomelingen werden weinig afwijkingen gezien (Dallegrave et al. 2007).
- * In een muis Leydig cellijn werd blootstelling aan RoundupTM geassocieerd met een inhibitie van steroïdogeenese via disruptie van StAR expressie (Walsh et al. 2000).

Persistentie en metabolisme

In de bodem bezit glyfosaat een gemiddelde halfwaardetijd van 47 dagen, in water bedraagt de halfwaardetijd 12 dagen tot 10 weken (extoxnet).

Glyfosaat accumuleert niet in het lichaam, en wordt snel geëxcreteerd (30% in urine). De voornaamste metaboliet is aminomethylphosphonic acid (AMPA), dit zou minder toxisch zijn dan glyfosaat zelf. Maar glyfosaat wordt slechts weinig gemetaboliseerd en verlaat het lichaam grotendeels onveranderd (WHO 2005).

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ glyfosaat in urine

- Acquavella et al. 2004: Limit of Detection (LOD) 1 µg/L
analyse met chelation ion exchange/HPLC/fluorescente detectie

Glyfosaat werd hier gemeten in het kader van de Farm Family Exposure Study.

- ➔ landbouwers op dag van applicatie: 60% boven LOD
- ➔ echtgenoten landbouwer: 4% boven LOD
- ➔ kinderen landbouwer: 12% boven LOD

- Biagini et al. 2004: LOD 0,09 µg/L in verdunde urine
analyse met FCMA (fluorescent covalent microbead immunoassay)

- Saito et al. 2011: LOD 100 µg/L LOQ 500 µg/L
analyse met GC-MS (gas chromatografie – massaspectrometrie)

- Curwin et al. 2007: LOD 0,9 µg/L
analyse met FCMA

Er werd een vergelijking gemaakt van de concentratie glyfosaat in urine bij landbouwgezinnen t.o.v. niet-landbouwgezinnen: ➔ vergelijking boeren- niet boeren: 75% en 66% boven LOD

- ➔ echtgenote boer – echtgenote niet boer: 67% en 65% boven LOD
- ➔ kind boer – kind niet boer: 81% en 88% boven LOD

- Montesano et al. 2008: LOD 0,5 µg/L
analyse met LC-MS/MS (liquid/vloeibare chromatografie – MS)

- AMPA in urine
 - Montesano et al. 2008: LOD 1,7 µg/L
analyse met LC-MS/MS
- glyfosaat in serum
 - Motojyuku et al. 2008: LOD 0,25 µg/L
analyse met GC-MS
 - Yoshioka et al. 2011: LOD 0,03 µg/L
analyse met LC-MS/MS
 - Saito et al. 2011: LOD 0,5 µg/L
- AMPA in serum
 - Motojyuku et al. 2008: LOD 0,25 µg/L
analyse met GC-MS
 - Yoshioka et al. 2011: LOD 0,02 µg/L
analyse met LC-MS/MS

Analyse en kostprijs

- Offerte Richrom: € 400 voor het 1^e staal, €175/staal voor de rest van de stalen (totaal €2325, excl BTW)
analyse met LC-MS/MS, 20 mL urine nodig per staal
LOD 0,5 µg/L; LOQ 1 µg/L^{1,2}
- Offerte MANT (VITO): € 2980 voor 12 stalen (excl BTW)
analyse met LC-MS/MS, 100mL urine per staal (Montesano et al. 2008)
LOD < 1 µg/L
- Offerte Medisch Laboratorium Bremen: €55 per staal, gelijktijdige analyse van AMAP
GC-MS/MS, 10 mL urine
LOD 0,05 µg/L; LOQ 0,2 µg/L

Referentiewaarden

Er zijn geen Vlaamse of Belgische referentiewaarden beschikbaar voor glyfosaatmetingen. Wel werd glyfosaat in urine een aantal keer gemeten in Amerikaanse studies, een overzicht wordt gegeven in Tabel 18.

Tabel 18: Internationale referentiewaarden voor glyfosaat

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
landbouwer	m	urine	glyfosaat	3,2 µg/L*	2004	USA ^a
adult	v	urine	glyfosaat	96%<LOD	2004	USA ^a
4-18 jaar	m/v	urine	glyfosaat	88%<LOD	2004	USA ^a
landbouwer	m	urine	glyfosaat	1,9 µg/L*	2007	USA ^b
adult	m	urine	glyfosaat	1,4 µg/L*	2007	USA ^b
vrouw landbouwer	v	urine	glyfosaat	1,5 µg/L*	2007	USA ^b
adult	v	urine	glyfosaat	1,5 µg/L*	2007	USA ^b
kind landbouwer	m/v	urine	glyfosaat	2 µg/L*	2007	USA ^b
kind	m/v	urine	glyfosaat	2,7 µg/L*	2007	USA ^b

*geometrisch gemiddelde ^aAcquavella et al. 2004; ^bCurwin et al. 2007

¹ LOD of Limit of Detection/detectielimiet = concentratie waarboven een stof met de beschikbare methoden betrouwbaar gemeten kan worden; LOQ of Limit of Quantification/kwantificatielimiet = concentratie waarboven een stof precies en accuraat kwantitatief gemeten kan worden

² LOD/LOQ uit offerte bleek in praktijk niet haalbaar.

In Tabel 19 wordt een samenvatting gegeven van de hormoonverstorende eigenschappen en biomerkers van glyfosaat. Het percentage deelnemers dat een waarde had boven de LOD varieert sterk wat betreft glyfosaat gehalten in urine. De studies die glyfosaat en AMPA detecteerden in serum ontwikkelden een methode om deze biomerkers te meten, maar de metingen werden niet toegepast op een bevolkingsgroep, dus is het niet mogelijk om een percentage boven de LOD weer te geven. Een niet-invasieve meting van glyfosaat in urine geniet de voorkeur.

Tabel 19: overzicht glyfosaat

<i>Groep</i>	<i>Metabooliet</i>	<i>Gekende biomarker(s)</i>	<i>>LOD</i>	<i>Hormoonverstoring</i>
fosfonoglycine	AMPA	glyfosaat in urine	4-88%	categorie 3a EU
	wordt weinig	glyfosaat in serum	/	in vitro + in
	gemetaboliseerd	AMPA in serum	/	proefdieren

Afkortingen: LOD limit of detection; AMPA aminomethylphosphonic acid

2.7. FLUFENACET

Flufenacet is een anilide herbicide dat de celdeling en groei inhibeert door in te werken op het vetzuurmetabolisme. Het is een selectief middel met breedwerkende eigenschappen naar éénjarige grassen en éénjarige tweezaadlobbige onkruiden. Flufenacet wordt gebruikt in de teelt van granen en in de fruit –en sierteelt. Het wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in verscheidene formuleringen (fytoweb).

Toxiciteit

Mensen kunnen blootgesteld worden aan flufenacet via inhalatie, ingestie of dermaal contact. Flufenacet wordt geklassificeerd als 'not likely' carcinogeen, gebaseerd op het ontbreken van carcinogeniciteit bij ratten en muizen. Wel is het toxisch voor de huid.

hormoonverstorende eigenschappen

Flufenacet is niet opgenomen in de lijst van het college van experts van EU, ook in de literatuur werd geen informatie gevonden over eventuele endocrien verstorende eigenschappen.

Persistentie en metabolisme

Flufenacet is matig persistent in de omgeving; het bezit in bodem en water een halfwaardetijd van één tot twee jaar.

Flufenacet wordt snel gemetaboliseerd en geëxcreteerd, vooral via de urine, een klein deel via de faeces. Er bestaan 39 metabolieten, waarvan er 23 geïdentificeerd werden (USEPA fact sheet).

Biomerkers

Er werd geen informatie gevonden over eventuele biomerkers.

In Tabel 20 wordt een overzicht gegeven van de belangrijke criteria voor flufenacet. Er zijn geen biomerkers beschikbaar en er is geen informatie over hormoonverstoring.

Tabel 20: overzicht flufenacet

Groep	Metabooliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
anilide herbicide	meerdere	/	/	/

afkortingen: LOD limit of detection

2.8. ISOPROTURON

Isoproturon is een ureum herbicide dat gebruikt wordt in de teelt van granen. Het werkt via inhibitie van de fotosynthese. Isoproturon wordt toegelaten voor gebruik in België (fytoweb).

Toxiciteit

Isoproturon bezit een lage acute toxiciteit en een lage tot matige toxiciteit na korte en lange termijn blootstelling. Het is niet genotoxisch, maar veroorzaakt wel enzyme inductie en vergroting van de lever. Bovendien veroorzaakt het een stijging van hepatocellulaire tumoren in ratten, in dosissen die ook levertoxiciteit teweeg brachten. Isoproturon lijkt eerder een tumorpromotor te zijn dan een zuiver carcinogeen (WHO chemical fact sheet).

hormoonverstorende eigenschappen

Isoproturon werd door de EU niet opgenomen in de lijst met hormoonverstoorders. In de internationale literatuur werd slechts één studie teruggevonden die een hormoonverstorende werking door isoproturon rapporteerde:

* In hoge dosissen veroorzaakt isoproturon een verstoring van androgeen biosynthese en spermatogenese bij ratten (Sarkar et al. 1997).

Persistentie en metabolisme

Isoproturon blijft dagen tot weken aanwezig in de omgeving, het is mobiel in de bodem. Het accumuleert niet in de mens. De voornaamste metaboliet is desmethylisoproturon (WHO chemical fact sheet). Isoproturon wordt snel geëlimineerd in geiten, voornamelijk via de faeces en in mindere mate via de urine (Juliet et al. 1998).

Biomerkers

Er werd geen informatie gevonden over eventuele biomerkers.

In Tabel 21 wordt een overzicht gegeven van de belangrijke criteria voor isoproturon. Er zijn geen biomerkers beschikbaar en er is beperkte informatie over hormoonverstoring.

Tabel 21: overzicht isoproturon

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
fenyl ureum herbicide	desmethyl-isoproturon	/	/	niet in lijst EU weinig andere studies

afkortingen: LOD limit of detection

2.9. LINURON

Linuron is een methoxymethylureumverbinding en inhibeert het fotosynthese II systeem (Hill-reactie). Het is een selectief systemisch herbicide dat wordt opgenomen via de wortels. Linuron wordt in België gebruikt als herbicide tegen éénjarige dicotylen en breedblarige onkruiden in de graan- en fruitteelt en in verschillende groentegewassen. Linuron wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in verscheidene formuleringen (fytoweb).

Toxiciteit

Blootstelling aan linuron kan teweeg gebracht worden via ingestie, inhalatie of dermaal contact. Het werd geclassificeerd door EPA in de klasse III 'slightly toxic' (extoxnet) via orale, dermal of inhalatie opname. Het veroorzaakt bij konijnen lichte irritatie aan de ogen, maar is niet irriterend voor de huid. De ADI van linuron bedraagt 0,003 mg/kg bw/dag (Europese Commissie 2002).

hormoonverstorende eigenschappen

Linuron werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 1, wat betekent dat er duidelijk bewijs is van endocriene verstoring. In de literatuur kunnen daarnaast ook verscheidene publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden in vitro en bij proefdieren:

- * Bij ratten werd een vermindering van testosteronproductie gezien, er werd geen effect op progesteron waargenomen (Wilson et al. 2009).
- * Bij ratten zag men een daling van vetopslag en leptine, een stijging van triglyceriden en serum lipiden, een daling van de schildklierhormonen T3 en T4. Deze effecten zouden onafhankelijk zijn van oestrogeenreceptoren (Seidlová-Wuttke et al. 2005).
- * Linuron werkt anti-androgeen in proefdieren (Kang et al. 2004).
- * Bij ratten die in utero blootgesteld werden aan linuron had dit een impact op testosteron-gemedieerde reproductieve ontwikkeling (McIntyre et al. 2000).
- * In vitro werd geen effect geobserveerd op oestrogeen receptor activatie (Vinggaard et al. 1999).
- * Bij ratten induceert linuron tumoren in Leydig cellen via een anti-androgeen mechanisme (misschien via hypersecretie van LH) (Cook et al. 1993).
- * Bij ratten werkt linuron zwak anti-androgeen. Reproductieve afwijkingen bij mannelijke ratten na perinatale blootstelling werden waargenomen (Wittke et al. 2001).
- * Linuron verdrijft testosteron van zijn androgeenreceptor in ratten (Bauer et al. 1998).

Persistentie en metabolisme

Linuron bezit een halfwaardetijd van 30 tot 150 dagen in verschillende bodems, gemiddeld ongeveer 60 dagen (extoxnet).

In ratten wordt linuron volledig gemetaboliseerd na passage in de lever, het bioaccumuleert niet (extoxnet).

Metabolieten: 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline
 DCPMU 3,4-dichlorofenyl-3-methyl urea
 DCPU 3,4-dichlorofenyl urea
 DCXU 3,4-dichlorofenyl-N-methoxy urea
 DCU 3,4-dichlorofenyl urea

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ 3,4-DCA in urine

Dit wordt gebruikt bij de synthese van fenylureum en fenylcarbamaat herbiciden zoals diuron en linuron, en bij de productie van azo-kleurstoffen voor polyestervezels en bij de synthese van trichloorcarbanilide (een bactericide gebruikt in huishoudproducten zoals zeep en deodorant).

3,4-DCA werd reeds gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2e Steunpunt in mengstalen in urine, in geen enkele pool kon het gedetecteerd worden (LOD 0,5 µg/L).

3,4-DCA is geen specifieke biomarker voor linuron, het is ook een biomarker voor diuron, neburon en propanil (Wittke et al. 2001). 3,4-DCA (CAS 95-76-1) staat zelf in categorie I in de lijst met hormoonverstoorders van de EU.

- Wittke et al. 2001: LOD 0,03 µg/L na meting met GC-MS/MS
LOD 0,05 µg/L na meting met GC-ECD
range 0,13-0,34 µg/g crt
- Turci et al. 2006: analyse met GC-MS/MS
LOD 0,005 µg/L
81,7% > LOD
range 0,01-6,19 µg/L

In het Steunpunt Milieu & Gezondheid kon 3,4-DCA niet gedetecteerd worden in de gepoolde stalen, detectie was wel mogelijk in de studies in Duitsland en Italië. In deze studies lag de detectielimiet dan ook een factor 10 tot 100 lager.

➤ DCPU en DCPMU in urine

Deze werden gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2e Steunpunt in mengstalen in urine. De metabolieten konden in geen enkele pool gedetecteerd worden (LOD DCPU: 0,5 µg/L; LOD DCPMU: 0,25 µg/L).

DCPU en DCPMU zijn ook niet specifiek voor linuron, het zijn ook biomerkers voor diuron.

Analyse en kostprijs

Analyse van 3,4-DCA, DCPU en DCPMU werd in het 2^e Steunpunt reeds uitgevoerd door Richrom. Voor analyse met LC-MS was 25 mL urine nodig. De LOD voor de verschillende anilinemetabolieten lag tussen 0,1 en 1 µg/L.

Meting van de anilinemetabolieten kostte €150 per staal (gedateerde prijs).

Momenteel beschikken ze bij Richrom over nieuwere apparatuur waarmee gevoeliger gemeten kan worden, dit zou een LOD opleveren die een factor 10 lager ligt dan de LOD in het 2^e Steunpunt.

Referentiewaarden

Vlaamse referentiewaarden uit het Steunpunt Milieu & Gezondheid worden weergegeven in Tabel 22, alle metingen lagen onder de detectielimiet. Internationale referentiewaarden voor 3,4-DCA worden gegeven in Tabel 23, in Duitsland en Italië werd 3,4-DCA wel boven de detectielimiet gedetecteerd. In deze studies ligt de LOD lager dan in het Steunpunt Milieu & Gezondheid.

Tabel 22: Vlaamse waarden in mengstalen voor 3,4-DCA, DCPU en DCPMU

Leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar
14-15	m/v	urine	3,4-DCA	onder LOD (0,5 µg/L)	'07-11
20-40	m/v	urine	3,4-DCA	onder LOD	'07-'11
14-15	m/v	urine	DCPU	onder LOD	'07-'11
20-40	m/v	urine	DCPU	onder LOD	'07-'11
14-15	m/v	urine	DCPMU	onder LOD	'07-'11
20-40	m/v	urine	DCPMU	onder LOD	'07-'11

uit Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011

Tabel 23: Internationale referentiewaarden voor 3,4-DCA

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
		urine	3,4-DCA	0,13 – 0,34 µg/g crt ⁺	2000	Duitsland ^a
		urine	3,4-DCA	0,65 µg/L [*]	2006	Italië ^b

⁺range ^{*}geometrisch gemiddelde ^auit Wittke et al. 2001 ; ^buit Turci et al. 2006

Een overzicht van hormoonverstorende eigenschappen en biomerkers van linuron kan teruggevonden worden in Tabel 24. Linuron werkt hormoonverstorend. Er zijn 3 biomerkers beschikbaar, maar deze zijn niet specifiek voor linuron. De metingen zaten in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid allemaal onder de detectielimiet, maar 2 studies in Duitsland en Italië konden 3,4-DCA wel meten en beschikten over een detectielimiet die 10 tot 100 keer lager lag dan in de Vlaamse biomonitoring.

Tabel 24: overzicht linuron

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
fenyl ureum herbicide	3,4-DCA	3,4-DCA in urine	0-82%	categorie 1 EU
	DCPU	DCPU in urine	<LOD	in vitro + in
	DCPMU	DCPMU in urine	<LOD	proefdieren
	DCXU			
	DCU			

afkortingen: LOD limit of detection; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline; DCPMU 3,4-dichlorofenyl-3-methyl urea; DCPU 3,4-dichlorofenyl urea; DCXU 3,4-dichlorofenyl-N-methoxy urea; DCU 3,4-dichlorofenyl urea

2.10. 4-CHLORO-2-METHYLFENOXY AZIJNZUUR (MCPA)

MCPA of 4-chloro-2-fenoxy azijnzuur is een fenoxyazijnzuurderivaat. Het is een systemisch en selectief synthetisch plantenhormoon (auxine). Natuurlijke auxines bevorderen de groei door hun inwerking op de celdeling, -differentiatie en -elongatie. Het gebruik van synthetische auxines leidt tot een abnormale groei en in het ontregelen van de normale functies in de plant. Dit leidt uiteindelijk tot het afsterven van de plant. MCPA wordt gebruikt in de bestrijding van éénjarige en doorlevende dicotylen in de fruit- en graanteelt, in grasland en tegen distels. MCPA is toegelaten voor gebruik in België en bestaat in verschillende formuleringen, vaak in combinatie met 2,4-D (fytoweb).

Toxiciteit

MCPA wordt beschouwd als licht toxisch via ingestie, inhalatie of dermaal contact. Symptomen van MCPA intoxicatie zijn o.a. hoofdpijn, misselijkheid, irritatie van huid en ogen, abdominale klachten, overgeven, zwakheid en bewustzijnsverlies. Het zou niet carcinogeen zijn (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

MCPA staat niet vermeld in de lijst van het college van experts van de EU, en er werden geen studies gevonden over endocriene verstoring door MCPA in de literatuur.

Persistentie en metabolisme

MCPA wordt snel gedegradeerd in bodem en water (extoxnet). In het lichaam wordt het snel gemetaboliseerd (enkele dagen) en geëlimineerd binnen 5 dagen (voornamelijk via urine). De voornaamste metabolieten zijn 2-methyl-4-chlorofenol (2-MCP) en 4-chloro-2-hydroxymethylfenoxy azijnzuur (HMCPA).

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ MCPA in urine

- Arbuckle et al. 2005: 44-58 µg/L bij landbouwers
LOD 1µg/L
analyse met GC-MS
- Arbuckle et al. 2004: max 45 µg/L bij kinderen van landbouwers
30% > LOD van 1 µg/L
analyse met GC-MS
- Arbuckle & Ritter 2005: 0,7 µg/L bij echtgenotes van landbouwers
21% > LOD van 1 µg/L
analyse met GC-MS
- Lindh et al. 2008: 0,5 µg/L bij mannen
vrouwen onder LOD
LOD 0,05 µg/L
analyse met LC-MS/MS
- Rosales-Conrado et al. 2008: range 25-150 µg/L
100% > LOD van 5,9 µg/L
analyse met cLC

Een overzicht van de biomarker voor MCPA wordt getoond in Tabel 25. MCPA kan gemeten worden in urine, maar uit de literatuur blijkt dat de gehalten vaak onder de LOD liggen bij niet-professionele gebruikers. Daarnaast lijkt MCPA geen endocriene verstoorder te zijn.

Tabel 25: overzicht MCPA

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
chlorofenoxy-azijnzuur herbicide	2-MCP HMCPA	MCPA in urine	20-100%	/

Afkortingen: LOD limit of detection; 2-MCP 2-methyl-4-chlorophenol; HMCPA 4-chloro-2-hydroxymethylphenoxyacetic acid

2.11. METOLACHLOOR

Metolachloor is een chlooracetanilide herbicide dat gebruikt wordt op aardbeien, mais, witloof, bieten en bonen. Het werkt via remming van de celdeling. Het wordt toegelaten voor gebruik in België (fytowebe).

Toxiciteit

Metolachloor is licht toxisch via ingestie, inhalatie en dermal absorptie. Bij humane intoxicatie komen volgende symptomen voor: buikpijn, anemie, kortademigheid, donkere urine, convulsies, diarree, misselijkheid, overmatig zweten en duizeligheid. Het is toxisch voor de lever en kan irritatie aan huid en ogen veroorzaken. Metolachloor lijkt niet mutageen of carcinogeen te zijn (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Metolachloor werd niet opgenomen in de lijst met hormoonverstoorders van de EU. In de internationale literatuur werd slechts weinig teruggevonden in verband met een endocriene werking van metolachloor:

- * Metolachloor induceert aromatase activiteit in een humane cellijn (Laville et al. 2006).
- * Een effect op de transcriptie van schildklier-gerelateerde genen door metolachloor werd vastgesteld bij vissen (Jin et al. 2011).
- * In een case control studie werd bij mannen een slechtere spermakwaliteit vastgesteld in relatie met metolachloor (Swan et al. 2003)

Persistentie en metabolisme

Metolachloor heeft een halfwaardetijd van 15 tot 70 dagen in verschillende bodemtypes. In water bezit het een halfwaardetijd van meer dan 200 dagen (extoxnet).

Metolachloor wordt snel afgebroken en bijna volledig geëxcreteerd via urine en faeces. Het wordt niet op zich gedetecteerd in urine, faeces of andere weefsels. In ratten werd 70% tot 90% van het metolachloor geëxcreteerd als metabolieten in de urine binnen 48 uur (extoxnet).

Biomerkers

- Metolachloor mercapturaat in urine
 - Swan et al. 2003: metingen bij mannen met normale spermakwaliteit (controles) en mannen met lage spermakwaliteit (cases):
 - controles: 0,28 en 1,28 µg/g crt;
 - cases: 0,48 en 0,20 µg/g crt
 - LOD: 1 µg/g crt: 96% (Missouri) en 39% (Minnesota) boven LOD
 - meting met MS
 - Hines et al. 2003: geometrisch gemiddelde 24 uur collectie is 22 nmol
 - LOD 4,9 nmol/L
 - detectie bij 60% van de gebruikers
 - slechts bij 2,2% van de niet-gebruikers (referentiepopulatie) gedetecteerd
 - meting met een immunoassay
 - Chevrier et al. 2011:
 - LOQ: 0,002 µg/L
 - 25 % boven LOQ

Een overzicht van de kenmerken van metolachloor is terug te vinden in Tabel 26.

Tabel 26: overzicht metolachloor

Groep	Metabooliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
chlooracetanilide herbicide	meerdere	metolachloor-mercapturaat	2,2-96%	niet in lijst EU weinig in andere studies

afkortingen: LOD limit of detection

2.12. PIPERONYL BUTOXIDE

Piperonyl butoxide is één van de meest gebruikte hulpstoffen, het is een insecticide synergist. Het inhibeert microsomale enzymen en potentieert zo de toxische effecten van pyrethroïden. Zonder piperonyl butoxide zou een insect een insecticide zeer snel kunnen degraderen voor het zijn effect kan uitoefenen. Door toevoeging van piperonyl butoxide moet er minder insecticide gebruikt worden voor eenzelfde effect (atsdr). Piperonyl butoxide is toegelaten voor gebruik in België en wordt gebruikt in verscheidene formuleringen, vooral in combinatie met pyrethroïde pesticiden (fytoweb).

Toxiciteit

Beroepsblootstelling aan piperonyl butoxide gebeurt via inhalatie van stof en dermaal contact waar de stof geproduceerd of gebruikt wordt. De algemene bevolking kan blootgesteld worden aan piperonyl butoxide via inhalatie van stof, inname van gecontamineerd voedsel en dermaal contact met het product of andere insecticide producten die piperonyl butoxide bevatten (pubchem).

In proefdieren en mensen is piperonyl butoxide zeer weinig tot weinig toxisch via blootstelling door ingestie, inhalatie of absorptie via de huid. Het wordt door EPA geklasseerd als een groep C carcinogeen, wat betekent dat het mogelijk carcinogeen is voor de mens, gebaseerd op beperkt bewijs bij proefdieren (npic). De ADI bedraagt 0,03 mg/kg (FAO/WHO pubchem).

hormoonverstorende eigenschappen

Piperonyl butoxide werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 2, wat betekent dat er bewijs is van endocriene verstoring. In de literatuur kunnen een aantal publicaties teruggevonden worden waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden in vitro en bij proefdieren:

- * Piperonyl butoxide inhibeert adrenocorticotropine hormoon vrijzetting in een hypofyse tumorcellijn van muizen (Luini & Axelrod 1985).
- * Ratten die piperonyl butoxide te eten kregen, vertoonden een diffuse hypertrofie van de lever, en het mRNA niveau van de oestrogeen en androgeen receptoren in de lever daalde (Fujimoto et al. 2012).
- * Piperonyl butoxide zorgt voor inductie van vitellogenine expressie in daphnia's, wat wijst op oestrogene activiteit (Hannas et al. 2011).

Persistentie en metabolisme

In de rat werden 12 metabolieten teruggevonden in urine, 4 in faeces en piperonyl butoxide zelf in faeces (Byard and Neeham 2006). Het is niet persistent in de omgeving.

Biomerkers

- piperonyl butoxide in urine
- Cazorla-Reyes et al. 2011: LOD 0,15 µg/L, LOQ 0,47 µg/L
analyse met LC-MS/MS
detectie in 1 van 12 stalen bij kinderen in landbouwgebied (Spanje)

Een aantal publicaties zijn beschikbaar over hormoonverstoring door piperonyl butoxide. Er is slechts één studie die de hulpstof gemeten heeft in urine, bij kinderen in landbouwgebied. Bij slechts 1 van de 12 kinderen werd piperonyl butoxide gedetecteerd. Een overzicht is terug te vinden in Tabel 27.

Tabel 27: overzicht piperonyl butoxide

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
hulpstof	meerdere	piperonyl butoxide in urine	< LOD	categorie 2 EU in vitro + in proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection

2.13. TERBUTHYLAZINE

Terbuthylazine is een triazine herbicide dat voornamelijk toegepast wordt in de maïsteelt. Het wordt toegelaten voor gebruik in België (fytoweb), en wordt soms in drinkwater gevonden (cfr Hoofdstuk 2).

Toxiciteit

Terbuthylazine bezit een lage acute toxiciteit voor orale inname, inhalatie en dermale absorptie. Het is matig irriterend voor de ogen, en licht irriterend voor de huid, het werkt niet sensibiliserend op de huid. EPA klasseerde terbuthylazine als een groep D carcinogeen, wat betekent dat er onvoldoende bewijs is om carcinogeniciteit in mensen te bepalen (USEPA fact sheet).

hormoonverstorende eigenschappen

Terbuthylazine werd niet opgenomen in de lijst met hormoonverstoorders van de EU, en er werden geen publicaties in de internationale literatuur gevonden omtrent endocriene effecten.

Persistentie en metabolisme

Terbuthylazine is persistent in de meeste aquatische omgevingen (USEPA fact sheet). Het heeft een halfwaardetijd tussen 76 en 331 dagen in rivier, zee en grondwater (Navarro et al. 2004).

Informatie over het metabolisme is beperkt. De voornaamste metabolieten zijn desisopropyl-hydroxy-atrazine, desethyl-hydroxy-terbuthylazine, desisopropyl-atrazine, hydroxy-terbuthylazine and desethyl-terbuthylazine (Gikas et al. 2012).

Biomerkers

➤ Terbuthylazine in urine

- Rubino et al. 2012: mediaan 13 nmol voor 24 uur urinecollectie bij beroepsblootgestelden
- Hu et al. 2009: LOD 0,006 µg/L

➤ Terbuthylazine in haar

- Mercadante et al. 2012: LOD ?
detectie bij 100% van de landbouwers
detectie bij 75% van de inwoners van een landelijk gebied
geen detectie bij inwoners van een stedelijk gebied
meting via LC-MS

Een overzicht van terbuthylazine wordt weergegeven in Tabel 28. Er zijn geen bewijzen van eventuele hormoonverstorende effecten. Het kan gemeten worden in urine en in haar, maar er zijn weinig gegevens over humane monitoring beschikbaar.

Tabel 28: overzicht terbuthylazine

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
triazine herbicide	meerdere	terbuthylazine in urine terbuthylazine in haar	/ 0-100%	/

afkortingen: LOD limit of detection

2.14. CARBENDAZIM

Carbendazim of methyl-2-benzimidazole carbamaat (MBC) is een lid van de benzimidazole carbamaat familie, en is de voornaamste metabooliet van benomyl. Het is een systemisch fungicide waarvan het werkingsmechanisme berust op een verstoring van de mitose. Door een complexvorming met tubuline, een onderdeel van de microtubuli, kan de tubuline niet tot microtubuli worden geassembleerd, hetgeen resulteert in een remming van de kern- en celdeling. Carbendazim wordt gebruikt als fungicide voor een breed gamma aan planten, zoals granen, katoen, suikerbiet, sojabonen, groenten en fruit. Het wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in het product Punch SE (fytoweb).

Carbendazim zou ook een klinisch belang kunnen hebben als therapie in de strijd tegen kanker. Het zou testiculaire veranderingen induceren, spermatozoa inactiveren en embryotoxisch zijn bij dieren, via inhibitie van 'microtubuli assembly' en genetische modificaties. Dit leidde tot de hypothese dat carbendazim apoptotisch werkt op carcinoma cellen (Yenjerla et al. 2009).

Toxiciteit

De algemene bevolking wordt blootgesteld aan carbendazim door inname via voeding. Beroepsblootstelling bij landbouwers vindt plaats via huidcontact of inhalatie, het risico op blootstelling kan beperkt worden door het dragen van beschermende kledij en een stofmasker.

De 'parent compound' van carbendazim is benomyl, beiden bezitten een gelijkaardig toxiciteitsprofiel. Verschillend is wel dat benomyl huidsensitisatie kan veroorzaken, en carbendazim niet.

De acute toxiciteit van carbendazim is laag. Classificatie EPA: klasse IV: 'practically non-toxic' (benomyl; extoxnet). De ADI bedraagt 0,02 mg/kg/dag.

In een studie met zwangere muizen werd aangetoond dat een dosis van 300 en 600 mg/kg/dag de maternale concentraties van cholesterol, triglyceriden, glucose en creatinine verhoogde, en de niveaus van oestradiol en progesteron verlaagde. Daarnaast zag men ook een groter aantal dode foetussen. Een dosis van 150 mg/kg/dag resulteerde niet in maternale toxiciteit (Farag et al. 2011). Verder werd een vermindering gezien van erythrocyten, hemoglobine en hematocriet bij ratten, en levertoxiciteit. Carbendazim zou niet mutageen zijn (veroorzaakt DNA schade), maar zou wel kunnen leiden tot chromosomale afwijkingen. Over een al dan niet carcinogeen effect bestaat geen eenduidigheid (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Carbendazim werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 2, wat betekent dat er bewijs is van endocriene verstoring. Daarnaast kunnen in de literatuur ook verscheidene publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden bij proefdieren:

- * Een dosis van 300 en 600 mg/kg/dag bij zwangere muizen zorgt voor een daling van de maternale concentraties van oestradiol en progesteron (Farag et al. 2011).

- * Bij ratten werd een negatieve invloed geobserveerd op spermatogenese bij dosissen van 100 en 200 mg/kg/dag (Yu et al. 2009).

- * Bij ratten werd bij een dosis van 25 mg/kg/dag gedurende 48 dagen gezien dat het gewicht van de testes, en het gehalte aan testosteron en oestradiol daalden, de werking van antioxidanten verminderde, en oxidatieve stress markers verhoogden. Maar er trad opnieuw herstel op als er daarna geen carbendazim meer gegeven werd (Rajeswary et al. 2007).

Persistentie en metabolisme

Benomyl wordt zeer snel omgezet in carbendazim, deze laatste heeft in water een halfwaardetijd van 2 maanden (extoxnet).

Bij ratten worden twee metabolieten snel gevormd: methyl-5-hydroxy-2-benzimidazolecarbamaat (5-HBC) en 2-aminobenzimidazole (2-AB). Onveranderd carbendazim wordt vooral gevonden in bloed, 5-HBC vooral in organen en 2-AB wordt slechts weinig teruggevonden (Krechniak and Kosowska 1986).

Bij muizen daalden weefsel –en bloedconcentraties van carbendazim tot baseline niveau na 24 uur. Urine (25,7%) and faeces (16,6%) zijn de primaire excretiewegen. Binding aan plasmaproteïnen wordt geschat op 60-74%. Een klein deel wordt in vivo omgezet tot de metaboliet (LC/MS) 2-aminobenzimidazole (2-AB), de ratio met carbendazim is 1,5% (Jia et al. 2002).

Biomerkers

➤ 5-HBC in urine

Leenheers et al. 1993: LOD 5 µg/L
analyse met HPLC
niet-beroepsblootgestelden: soms detectie

➤ carbendazim in serum

Araoud et al. 2010: bij beroepsblootgestelden: soms detectie
analyse met LC-MS/MS
‘er blijken geen humane biomonitoringsdata beschikbaar te zijn voor carbendazim’

Een overzicht van de biomerkers en hormoonverstorende eigenschappen van carbendazim wordt gegeven in Tabel 29. Het bestrijdingsmiddel werkt hormoonverstorend, maar er is weinig informatie over geschikte biomerkers beschikbaar om interne blootstelling te bepalen. 5-HBC zou gemeten kunnen worden in urine. De studie van Leenheers et al. uit 1993 resulteerde in een hoge detectielimiet van 5 µg/L. Via nieuwere technieken zou het mogelijk moeten zijn om die detectielimiet naar beneden te halen, waardoor 5-HBC misschien wel detecteerbaar zou kunnen zijn bij de algemene bevolking.

Tabel 29: overzicht carbendazim

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
benzimidazole carbamaat	5-HBC 2-AB	5-HCB in urine	<LOD	categorie 2 EU in vitro + in proefdieren

Afkortingen: LOD limit of detection; 5-HBC methyl-5-hydroxy-2-benzimidazolecarbamate; 2-AB 2-aminobenzimidazole

2.15. ATRAZINE

Atrazine is een triazine verbinding en inhibeert het fotosynthese II systeem (Hill-reactie). Het is een systemisch totaal herbicide dat echter selectiviteit kent door wortelopname (dicotylen vs. monocotylen) en de tolerantie bij bepaalde gewassen (maïs). In België is het sinds 2004 niet meer toegelaten deze werkzame stof te gebruiken (Bijlage 1, Richtlijn nr. 91/414/EC), maar desethylatrazine wordt soms in drinkwater teruggevonden (cfr hoofdstuk 2).

Toxiciteit

Atrazine kan via ingestie, inhalatie of dermaal geabsorbeerd worden. De stof is licht tot matig toxisch. Symptomen bij vergiftiging zijn overgeven, diarree, buikpijn, oogirritatie en huidreacties. Het oncogene potentieel is nog onzeker (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Atrazine werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 1, wat betekent dat er duidelijk bewijs is van endocriene verstoring. Ook in de literatuur zijn er een aantal publicaties te vinden over het hormoonverstorende effect van atrazine bij mensen en proefdieren:

* Via meting van atrazine mercapturaat in urine werd geobserveerd dat atrazine gerelateerd is met een verminderde semen kwaliteit bij mannen (Swan et al. 2003).

* Bij ratten wordt een stijging gezien van adrenocorticotropin hormoon, cortisol en progesteron (Laws et al. 2009).

* Atrazine induceert aromatase activiteit in een humane H295R adrenocorticale carcinoma cellijn (Sanderson et al. 2000).

Persistentie en metabolisme

De halfwaardetijd van atrazine loopt van 60 tot meer dan 100 dagen (extoxnet).

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

- atrazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,05 µg/L
2 % boven LOQ
- atrazine mercapturaat in urine
 - Norrgran et al. 2006: LOD: 0,06 ng/ml
analyse met HPLC-MS/MS
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,02 µg/L
4% boven LOQ
 - NHANES 2009: onder de LOD
- desethylatrazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,003 µg/L
10% boven LOQ
- desisopropyl atrazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,9 µg/L
4% boven LOQ
- 2-chlorodiaminoatrazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,5 µg/L
7% boven LOQ
- hydroxyatrazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,02µg/L
10% boven LOQ

- hydroxydesethylatrazine in urine
- Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,315 µg/L
5% boven LOQ
- hydroxy desisopropyl atrazine
- Chevrier et al. 2011: LOQ: 0,15 µg/L
16% boven LOQ

Een overzicht van de hormoonverstorende eigenschappen en biomerkers van atrazine kan teruggevonden worden in Tabel 30. In de studies die humane biomonitoring uitvoerden voor atrazine lagen de concentraties steeds bij meer dan 84% van de deelnemers onder de detectielimiet (

Tabel 31). Atrazine wordt niet meer toegelaten voor gebruik in ons land, en is niet persistent.

Tabel 30: overzicht atrazine

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
triazine herbicide	atrazine-	atrazine	<LOD	categorie 1 EU in vitro + in proefdieren
	mercapturaat	atrazine-mercapt	<LOD	
	dealkyl	dealkyl trazine	<LOD	
	metabolieten	metabolieten		

afkortingen: LOD limit of detection

Tabel 31: Internationale referentiewaarden voor atrazine en metabolieten

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
zwangeren	v	urine	atrazine	0,12 µg/L [°] 98%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	mercapturaat	0,05 µg/L [°] 96%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	desethylatrazine	0,1 µg/L [°] 90%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	deisopropyl	1,4 µg/L [°] 96%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	2-chlorodiamino	1 µg/L [°] 93%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	hydroxy	0,1 µg/L [°] 90%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	hydroxydesethyl	0,6 µg/L [°] 95%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
zwangeren	v	urine	hydroxy desisopropyl	0,6 µg/L [°] 84%<LOQ	2011	Frankrijk ^a
3-13 jaar	m/v	urine	atrazine	98%<LOD	2001	USA ^b
adult	m/v	urine	atrazine	<LOD	'99-'00	NHANES ^c
			mercapturaat		'01-'02	NHANES ^c

[°] mediaan ^a uit Chevrier et al. 2011, ^b uit Adgate et al. 2001, ^c uit NHANES 2009

2.16. CHLOORPYRIFOS

Chloorpyrifos is één van de meest gebruikte heterocyclische organofosfaat insecticiden. Het is een niet-systemisch bodeminsecticide, met een secundaire werking als acaricide en nematicide, dat de werking van het acetylcholinesterase inhibeert. Dit zorgt voor het ophopen van acetylcholine (neurotransmitter) in de synapsen van de zenuwcellen waardoor een voortdurende prikkel optreedt hetgeen uiteindelijk leidt tot de dood van het organisme. Chloorpyrifos wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in verscheidene formuleringen. In België wordt het vooral gebruikt bij de teelt van kolen, asperges, prei, in de sierteelt, boomkwekerijen en teelaarde (fytoweb).

Toxiciteit

Blootstelling aan chloorpyrifos gebeurt via voeding (gebruik van organofosfaat insecticiden op landbouwgewassen en in tuinen), inademing (gebruik van organofosfaat insecticiden in huis) en dermaal contact. Niet-beroepsblootstelling is meestal sporadisch en kortdurend, omdat deze pesticiden afbreken in het milieu, maar blootstelling via de voeding kan meer chronisch zijn (Barr en Angerer 2006).

Organofosfaat pesticiden zijn toxisch voor de mens omdat ze de afbraak van acetylcholine kunnen inhiberen in het centraal en perifeer zenuwstelsel (cholinesterase inhibitoren) en daardoor kunnen leiden tot neurotoxische effecten. Blootstelling aan organofosfaat pesticiden zou ook verband houden met Parkinson (Bhatt et al., 1999; Le Couteur et al., 1999) en astma (Hoppin et al., 2002; Eskepazi et al., 1999). Organofosfaatpesticiden zouden volgens humane studies ook een invloed hebben op de ontwikkeling van de foetus (Landrigan et al., 1999), en geboortegewicht en -lengte (Perera et al., 2003). De ADI van chloorpyrifos bedraagt 0,01 mg/kg bw/dag (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Chloorpyrifos werd door het college van experts van de EU opgenomen in categorie 3a, wat betekent dat er geen wetenschappelijke basis is om het te klasseren als hormoonverstorend. Er zijn wel studies beschikbaar, maar geen indicaties dat er een endocrien verstorend effect aanwezig is.

In de literatuur kunnen daarentegen verscheidene publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden bij mensen en bij proefdieren:

- * Een verlaging van FSH en LH werd vastgesteld bij landbouwers (Recio et al., 2005).
- * Testiculaire schade werd gezien bij arbeiders (Padungtod et al., 1998).
- * Acute blootstelling van de mens zorgt voor een hormonale en immunologische onderdrukking, maar chronische blootstelling zou een hormonale en immunologische activering tot gevolg hebben (Straube et al., 1999).
- * Bij ratten werd een daling in testosteron synthese geobserveerd (Viswanath et al. 2010).
- * Bij muizen zag men een daling van het schildklierhormoon T4 (De Angelis et al. 2009).
- * Na een lange termijn blootstelling bij ratten werkt chloorpyrifos anti-androgeen en veroorzaakt het hypothyroidisme (Jeong et al. 2006).
- * ...

Persistentie en metabolisme

De halfwaardetijd van chloorpyrifos in de bodem bedraagt 60-120 dagen, in water 35 tot 78 dagen (extoxnet).

Ongeveer 75% van de organofosfaatpesticiden worden in het lichaam gemetaboliseerd tot dialkyl fosfaat metabolieten en geëxcreteerd via de urine. Deze metabolieten zijn op zichzelf niet toxisch.

De halfwaardetijd van chloorpyrifos bedraagt ongeveer 24 uur in bloed (Nolan et al. 1984), 64 uur in vetweefsel en 15-30 uur voor de metabolieten in urine. Chloorpyrifos wordt snel gemetaboliseerd en voornamelijk uitgescheiden via de urine (extoxnet, Barr and Angerer 2006).

Metabolieten chloorpyrifos: DEP diethylfosfaat
 DETP diethylthiofosfaat
 TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

Biologische monitoring werd al uitvoerig toegepast om blootstelling en effecten van chloorpyrifos te onderzoeken; beschikbare informatie hierover is uitgebreid (Barr and Angerer).

➤ DEP en DETP in urine

Beschikbare biomerkers voor chloorpyrifos zijn DEP en DETP. Meting van de diethyl fosfaat metabolieten in de urine reflecteert de blootstelling aan organofosfaat pesticiden gedurende de voorbije dagen. Aangezien verschillende organofosfaatpesticiden gemetaboliseerd kunnen worden tot dezelfde diethylfosfaat metabolieten, zijn deze metabolieten niet specifiek voor één bepaald pesticide. Zonder specifieke bijkomende informatie kan de blootstelling dus niet worden teruggebracht tot één of enkele specifieke pesticiden.

Deze 2 biomerkers werden al gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2e Steunpunt.

Observaties 2e Steunpunt:

% metingen boven de detectielimiet:	DEP 54,7 en 55,8% (LOD 2 µg/L)
(jongeren en volwassenen)	DETP 23,3 en 32,0% (LOD 1 µg/L)

➤ TCPy in urine

TCPy is een specifieke biomarker voor chloorpyrifos en chloorpyrifos methyl (Barr en Angerer 2006).

- Kissel et al. 2005: LOD 0,87 µg/L

- Eskenazi et al. 2004: LOD 0,26 µg/L
 76,3% > LOD
 analyse met LC/ESI-MS/MS

- Lu et al. 2006: LOD 0,2 µg/L
 78 en 50% > LOD
 analyse met LC-MS/MS

- NHANES 2009: LOD 0,4 µg/L
 > 50% boven LOD
 analyse met GC-MS/MS

- Biomonitoring California (CECBP): resultaten nog niet beschikbaar

Analyse en kostprijs

➤ DEP EN DETP

Analyse van DEP en DETP werd in het 2^e Steunpunt reeds uitgevoerd door VITO-MANT (Milieuanalyse en techniek). Voor analyse met GC-MS was 10mL urine nodig. De LOD voor de verschillende organofosfaatmetabolieten lag tussen 0,3 en 0,9 µg/L.

Meting van de organofosfaatmetabolieten kostte €95 per staal (gedateerde prijs).

➤ TCPy

Offerte Richrom: € 400 voor het 1^e staal, €175/staal voor de rest van de stalen (totaal €2325, excl BTW).

analyse met LC-MS/MS, 20 mL urine nodig per staal
 LOD 0,2 µg/L; LOQ 0,5 µg/L

Offerte MANT (VITO): € 2030 voor 12 stalen (excl BTW)

analyse met LC-MS/MS, 5 mL urine per staal
 LOD < 1 µg/L

Vlaamse en internationale referentiewaarden

Een overzicht van referentiewaarden voor DEP en DETP uit het 2^e Steunpunt wordt gegeven in Tabel 32. Er zijn geen Vlaamse waarden beschikbaar voor TCPy.

Tabel 32: Vlaamse referentiewaarden voor DEP en DETP

Leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar
14-15	m/v	urine	DEP	2,5 µg/L* (2,2-2,9)	'07-'11
14-15	m/v	urine	DEP	1,9 µg/g crt* (1,7-2,2)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DEP	2,4 µg/L* (2,1-2,6)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DEP	2,2 µg/g crt* (1,9-2,5)	'07-'11
14-15	m/v	urine	DETP	>50% onder LOD	'07-'11
20-40	m/v	urine	DETP	>50% onder LOD	'07-'11

* geometrisch gemiddelde, uit Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011

Internationale referentiewaarden voor zowel DEP en DETP als TCPy kunnen teruggevonden worden in Tabel 33.

Tabel 33: Internationale referentiewaarden voor DEP, DETP en TCPy

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
35-64	m/v	urine	DEP	33,2 nmol/dag	'93-'98	Italië
35-64	m/v	urine	DETP	19 nmol/dag	'93-'98	Italië
6-7	M	urine	DEP	32,6 nmol/g crt	1995	Italië
6-7	m	urine	DETP	17,3 nmol/g crt	1995	Italië
6-7	V	urine	DEP	33,8 nmol/g crt	1995	Italië
6-7	v	urine	DETP	15 nmol/g crt	1995	Italië
>18	m/v	urine	DEP	27,4 nmol/g crt	1995	Italië
>18	m/v	urine	DETP	22,8 nmol/g crt	1995	Italië
<18		urine	DEP	3 µg/L°		Duitsland
<18		urine	DETP	<1,0 µg/L°		Duitsland
		urine	DEP	3,5 µg/L°	<1997	Duitsland
		urine	DETP	<LOQ	<1997	Duitsland
18-50	m	urine	DEP	150,4 µg/L*	'97-'98	Mexico
18-50	m	urine	DETP	43,4 µg/L*	'97-'98	Mexico
18-50	m	urine	DEP	217,1 µg/L*	'97-'98	Mexico
18-50	m	urine	DETP	32,1 µg/L*	'97-'98	Mexico
0-5		urine	DEP	8,4 µg/g crt*	1998	USA
0-5		urine	DETP	4 µg/g crt*	1998	USA
6-13		urine	DEP	4,6 µg/g crt*	1998	USA
6-13		urine	DETP	1,9 µg/g crt*	1998	USA
14-19		urine	DEP	3,6 µg/g crt*	1998	USA
14-19		urine	DETP	0,8 µg/g crt*	1998	USA
>20		urine	DEP	3,8 µg/g crt*	1998	USA
>20		urine	DETP	1,4 µg/g crt*	1998	USA
<18	m/v	urine	DEP+DETP	0,05 µmol/L*	1998	USA
<18	m/v	urine	DEP+DETP	0,05 µmol/L*	1998	USA
<18	v	urine	DEP+DETP	0,04 µmol/L*	1998	USA
6-11		urine	DEP	1,43 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
6-11		urine	DETP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k
6-11		urine	DETP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k
12-19		urine	DEP	0,818 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
12-19		urine	DETP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k

20-59		urine	DEDTP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k
20-59		urine	DEP	0,883 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
20-59		urine	DETP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k
20-59		urine	DEDTP	<LOD	'99-'00	NHANES ^k
6-7		urine	DEP	33,2 nmol/g crt*	2000	Italië ^d
6-7		urine	DETP	16,0 nmol/g crt*	2000	Italië ^d
2-17		urine	DEP	2,61 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17		urine	DETP	0,88µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17		urine	DEDTP	<LOD	'01-'02	GerES ^c
6-11		urine	DEP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
6-11		urine	DETP	0,591 µg/g crt	'01-'02	NHANES ^k
6-11		urine	DEDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
12-19		urine	DEP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
12-19		urine	DETP	0,393 µg/g crt	'01-'02	NHANES ^k
12-19		urine	DEDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
20-59		urine	DEP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
20-59		urine	DETP	0,447 µg/g crt	'01-'02	NHANES ^k
20-59		urine	DEDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^k
6-11		urine	DEP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
6-11		urine	DETP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
6-11		urine	DEDTP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
12-19		urine	DEP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
12-19		urine	DETP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
12-19		urine	DEDTP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
20-59		urine	DEP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
20-59		urine	DETP	<LOD	'03-'04	NHANES ^k
3-13 jaar	m/v	urine	TCPy	9,6 µg/L 98%>LOD	2001	USA ^g
zwangere	v	urine	TCPy	3,3 µg/L 76,3%>LOD	200	USA ^h
peuters	m/v	urine	TCPy	46 nmol/L	2005	USA ⁱ
kinderen	m/v	urine	TCPy	7,2 µg/L	2006	USA ^j
kinderen op biologisch dieet	m/v	urine	TCPy	1,7 µg/L	2006	USA ^j
kinderen	m/v	urine	TCPy	5,8 µg/L	2006	USA ^j
6-11		urine	TCPy	3,11 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
6-11		urine	TCPy	3,48 µg/g crt*	'01-'02	NHANES ^k
12-19		urine	TCPy	1,60 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
12-19		urine	TCPy	2,09 µg/g crt*	'01-'02	NHANES ^k
20-59		urine	TCPy	1,41 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^k
20-59		urine	TCPy	1,49 µg/g crt*	'01-'02	NHANES ^k

*mediaanwaarde *gemiddelde; ^c uit K. Becker et al., 2006 (Duitsland); ^d uit C. Aprea et al., 2000 (uit Van Den Heuvel et al., 2007), Heudorf et al., 2006, ^e uit Adgate et al. 2001, ^h uit Eskenazi et al. 2004, ⁱ uit Kissel et al. 2005, ^j uit Lu et al. 2006, ^k uit NHANES 2009

Een overzicht van de biomerkers en hormoonverstorende eigenschappen van chloorpyrifos wordt gegeven in Tabel 34. De specifieke metaboliet TCPy werd gedetecteerd in meer dan 50% van de stalen in de literatuur. Ook de niet-specifieke metabolieten DEP en DETP kunnen gemeten worden, deze zijn dan geen maat voor enkel chloorpyrifos, maar voor een hele reeks aan organofosfaatpesticiden. Met metingen van DEP en DETP hebben we wel reeds ervaring in de referentiebiomonitoring van het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid.

Tabel 34: overzicht chloorpyrifos

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
organofosfaat	DEP	DEP	>50%	categorie 3a EU
	DETP	DETP	23-32%	in vitro + in
	TCPy	TCPy	>50%	proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol

2.17. CYPERMETHRINE

Cypermethrine is een pyrethroïde pesticide. Pyrethrine komt van nature voor in Oost-Afrikaanse chrysanten. Synthetische pyrethroiden worden vervaardigd uit petroleumderivaten en worden veelvuldig gebruikt als insecticiden in huizen en tuinen ter behandeling van huisdieren, vee, in transportvoertuigen en als bescherming tegen muggen en andere ectoparasieten. Hun werking is gebaseerd op het verstoren van het overbrengen van zenuwpulsen en is effectief tegen een brede waaier insecten en mijten (Fishel, 2005). Het pesticide permethrine wordt ondermeer gebruikt in anti-luizenmiddelen. Vele insecticiden voor gebruik binnenshuis bevatten pyrethroïde pesticiden (Deschamps & Sarquit, 2007). Cypermethrine wordt toegelaten voor gebruik in België (fytowebe).

Toxiciteit

Men kan blootgesteld worden aan pyrethroïde pesticiden via inademing (bij gebruik van de insecticiden), orale opname (via voeding) of dermaal contact (bij gebruik van de insecticiden). Pyrethroïden zijn toxisch voor het centraal en perifeer zenuwstelsel in vitro, bij proefdieren en bij de mens (Matveeva et al. 2001, Kakko et al. 2003,2004). Mogelijk werken ze immuunverstorend, en ze zijn irriterend voor de luchtwegen (Pauluhn, 1999). EPA klasseerde cypermethrine als een mogelijk carcinogeen voor mensen, omdat de bewijzen errond niet sluitend zijn (extoxnet).

De ADI voor cypermethrine bedraagt 0.05 mg/kg bw/dag (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Cypermethrine werd geklasseerd in categorie 2 in de lijst van hormoonverstoorders van de EU. In de literatuur kunnen verscheidene publicaties teruggevonden worden die een endocrien effect van pyrethroïde pesticiden aantonen in vitro, bij mensen en proefdieren:

- * Een verminderde spermakwaliteit en een stijging van de DNA schade in sperma werd gerelateerd aan metabolieten (3-PBA en DCVA) van pyrethroïden in urine (Meeker et al. 2008).
- * Metabolieten van pyrethroïden (3-PBA en DCVA) werden geassocieerd met FSH, LH, inhibine en testosteron gehalten bij adulte mannen (Meeker et al. 2009).
- * Positieve associaties tussen de 3-PBA metaboliet in urine en het gehalte aan LH in serum, en negatieve associaties tussen 3-PBA en oestradiol werden gedetecteerd. In deze studie werd geen relatie met testosteron, FSH of prolactine waargenomen (Han et al. 2008).
- * In muizen werd na behandeling met cypermethrine een daling gezien in de testosteronproductie, daarnaast werd een effect gezien op een aantal genen die instaan voor cholesterol en testosteron synthese (Jin et al. 2011).
- * Cypermethrine, fenvalerate, permethrine en 3-PBA vertonen anti-androgene activiteit in een humane cellijn (Sun et al. 2007).
- * Cypermethrine induceert een abnormale morfologie in spermacellen in muizen (Kumar et al. 2004).
- * Bioallethrine, fenvalerate en permethrine werken anti-oestrogeen in een humane cellijn (Kim et al. 2004).

Persistentie en metabolisme

In de bodem bezit cypermethrine een halfwaardetijd van 4 dagen tot 8 weken, in water heeft het een halfwaardetijd van meer dan 50 dagen (extoxnet). Pyrethroïden worden snel geëxcreteerd in de urine, met halfwaardetijden tussen 5 en 8 uur. 99% van het cypermethrine wordt binnen een aantal uren uit het lichaam verwijderd.

Metabolieten: 3-fenoxybenzoëzuur (3-PBA)
3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropaan carboxylzuur (DCVA)

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ DCVA in urine

- GerES IV (Becker et al. 2006): P95 cis-DCVA 0,74 µg/L
P95 trans-DCVA 1,7 µg/L

- NHANES 1999-2000 en 2001-2002: onder de LOD van 0,1 µg/L
(Barr et al. 2010) P95 1,12 µg/L en 0,89 µg/L
- Biomonitoring California (CECBP): resultaten nog niet beschikbaar
- niet gemeten in Steunpunt Milieu & Gezondheid

➤ 3-PBA in urine

- 3-PBA werd in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid gemeten in mengstalen. Bij de jongeren werd het in 4 van de 5 pools gedetecteerd, bij de volwassenen slechts in 2 van de 5 pools. De LOQ bedroeg 0,24 µg/L. Ook in het 1^e Steunpunt werd 3-PBA gemeten, toen lagen de waarden ongeveer een factor 10 lager. De metingen werden uitgevoerd door verschillende laboratoria.
- GerES IV (Becker et al. 2006): 90% > LOD
geometrisch gemiddelde 0,24 µg/g crt
P95 2,4 µg/g crt
- NHANES 1999-2000 en 2001-2002: LOD 0,1 µg/L
(Barr et al. 2010) geometrisch gemiddelde 0,29 µg/L en 0,32 µg/L
> 70% boven de LOD
- Biomonitoring California (CECBP): resultaten nog niet beschikbaar

Analyse en kostprijs

Analyse van 3-PBA werd in het 2e Steunpunt reeds uitgevoerd door Richrom. Voor analyse met LC-MS/MS was 5 mL urine nodig. De LOD bedroeg 0,5 ng/L.
De meting kostte €100 per staal (gedateerde prijs).

Referentiewaarden

Een overzicht van de waarden die gemeten werden bij de Vlaamse bevolking in het 1^e en 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid in mengstalen wordt getoond in Tabel 35.

Tabel 35: Vlaamse waarden in mengstalen gemeten voor metabolieten van pyrethroïde pesticiden

Leeftijdsgroep	geslacht	matrix	congeneer	waarde	jaar
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,033 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,017 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,017 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,025 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,039 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,043 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,027 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,044 µg/g crt*	2003-2004 ^a
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,22 µg/g crt*	2007-2011 ^b
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,36 µg/g crt*	2007-2011 ^b
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,30 µg/g crt*	2007-2011 ^b
14-15	m/v	urine	3-PBA	<LOQ	2007-2011 ^b
14-15	m/v	urine	3-PBA	0,35 µg/g crt*	2007-2011 ^b
adult	m/v	urine	3-PBA	0,40 µg/g crt*	2007-2011 ^b
adult	m/v	urine	3-PBA	0,66 µg/g crt*	2007-2011 ^b
adult	m/v	urine	3-PBA	<LOQ	2007-2011 ^b

*geometrisch gemiddelde ^aUit Van den Heuvel et al, 2007 ^buit Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011

Referentiewaarden voor metabolieten van pyrethroiden werden opgemaakt in Duitsland, Italië, USA en Australië. Een overzicht is te vinden in Tabel 36.

Tabel 36: Internationale referentiewaarden voor pyrethroid metabolieten.

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	congeneer	waarde	jaar	land
22-58	m	urine	3-PBA	30 µg/L ^o	<1997	Duitsland ^b
22-60	m/v	urine	3-PBA	<LOD	<1997	Duitsland ^b
37.8	m/v	urine	3-PBA	0,1 µg/L ^o	'96-'99	Duitsland ^b
56	m/v	urine	3-PBA	6,1nmol/dag*	'93-'98	Italië ^b
		urine	3-PBA	1,24 µg/L*	<2005	Duitsland ^b
		urine	3-PBA	0,37 µg/L*	<2005	Duitsland ^b
25-55	m	urine	3-PBA	1,8µg/g crt*	<2003	Duitsland ^b
22-61	m	urine	3-PBA	6,8µg/g crt*	<2003	Duitsland ^b
48-51	m	urine	3-PBA	6,9µg/g crt*	<2003	Duitsland ^b
17-61	m/v	urine	3-PBA	0,16 µg/L ^o	<2002	Duitsland ^b
<17		urine	3-PBA	<LOD	2004	Duitsland ^b
2-17	m/v	urine	cis-DCVA	0,09 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17	m/v	urine	trans-DCVA	0,15µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17	m/v	urine	FPBA	<LOD	'01-'02	GerES ^c
2-17	m/v	urine	DBVA	0,06 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17	m/v	urine	3-PBA	0,24µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
algemeen	m/v	urine	3-PBA	0,261 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^d
algemeen	m/v	urine	3-PBA	0,316 µg/g crt*	'01-'02	NHANES ^d
6-11	m/v	urine	3-PBA	0,423 µg/g crt*	'01-'02	NHANES ^d
12-19	m/v	urine	3-PBA	0,274 µg/L*	'01-'02	NHANES ^d
20-59	m/v	urine	3-PBA	0,311 µg/L*	'01-'02	NHANES ^d
algemeen	m/v	urine	cis-DCVA	<LOD	'99-'00	NHANES ^d
algemeen	m/v	urine	cis-DCVA	<LOD	'01-'02	NHANES ^d
algemeen	m/v	urine	trans-DCVA	<LOD	'99-'00	NHANES ^d
algemeen	m/v	urine	trans-DCVA	<LOD	'01-'02	NHANES ^d
32-55 exposed	m	urine	3-PBA	1,2-61,1µg/g crt ⁺	2001	Australië ^e
32-55 exposed	m	urine	MPA	1,8-31,9µg/g crt ⁺	2001	Australië ^e
32-55 control	m	urine	MPA	1-1,4 µg/g crt ⁺	2001	Australië ^e

^omediaanwaarde; *rekenkundig gemiddelde; ⁺range ^buit Van Den Heuvel et al., 2007, ^cK. Becker et al., 2006,

^dNHANES 2009, ^eSmitha et al., 2002

3-PBA is een metaboliet van meerdere pyrethroïde pesticiden en weerspiegelt dus niet specifiek de blootstelling aan cypermethrine. Maar op deze manier is het wel mogelijk om blootstelling aan een groep van pyrethroïden te bepalen. 3-PBA is een gemeenschappelijke metaboliet van verschillende pyrethroïde pesticiden, zoals cypermethrine, fenvalerate, deltamethrine, cyhalothrine, permethrine en phenothrine. Deze metaboliet werd reeds gemeten in het Steunpunt Milieu & Gezondheid in mengstalen. DCVA werd niet gemeten in het Steunpunt, de waarden die hiervoor opgemeten werden in GerES en NHANES liggen veel lager dan de waarden voor 3-PBA, waardoor een meting van 3-PBA de voorkeur geniet. In de internationale literatuur werden endocrien verstorende eigenschappen van pyrethroïden meermaals beschreven (Tabel 37).

Tabel 37: overzicht pyrethroïden

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
pyrethroïden	3-PBA	3-PBA	> 50%	categorie 2 EU
	DCVA	DCVA	onder	

afkortingen: LOD limit of detection, 3-PBA 3-fenoxybenzoëzuur, DCVA 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropaan carboxylzuur

2.18. DIMETHOAAAT

Dimethoaat is een alifatisch organofosfaat insecticide dat inwerkt op het zenuwstelsel. Het is een systemisch insecticide, met een secundaire werking als acaricide, dat de werking van het acetylcholinesterase inhibeert. Dit zorgt voor het ophopen van acetylcholine (neurotransmitter) in de synapsen van de zenuwcellen waardoor een voortdurende prikkel optreedt hetgeen uiteindelijk de dood van het individu tengevolge heeft. In België wordt het vooral gebruikt in de bieten-, sier- en groententeelt. Het wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in verscheidene formuleringen (fytoweb).

Toxiciteit

Blootstelling aan dimethoaat gebeurt via voeding (gebruik van organofosfaat insecticiden op landbouwgewassen en in tuinen), inademing (gebruik van organofosfaat insecticiden in huis) en dermaal contact. Niet-beroepsblootstelling is meestal sporadisch en kortdurend, omdat deze pesticiden afbreken in het milieu, maar blootstelling via de voeding kan meer chronisch zijn (Barr en Angerer 2006).

Organofosfaat pesticiden zijn toxisch voor de mens omdat ze de afbraak van acetylcholine kunnen inhiberen in het centraal en perifeer zenuwstelsel (cholinesterase inhibitoren) en daardoor kunnen leiden tot neurotoxische effecten. Blootstelling aan organofosfaat pesticiden zou ook verband houden met Parkinson (Bhatt et al., 1999; Le Couteur et al., 1999) en astma (Hoppin et al., 2002; Eskepazi et al., 1999). Organofosfaatpesticiden zouden volgens humane studies ook een invloed hebben op de ontwikkeling van de foetus (Landrigan et al., 1999), en geboortegewicht en –lengte (Perera et al., 2003). De ADI van dimethoaat bedraagt 0,001 mg/kg bw/dag (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Dimethoaat werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 2, wat betekent dat er bewijs is van endocriene verstoring. In de literatuur kunnen daarnaast ook een aantal publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden bij proefdieren:

* Bij muizen werd na blootstelling in utero en via lactatie hetvolgende waargenomen: een daling van testosteron concentraties, veranderingen aan de testes en een vermindering van het aantal spermacellen (Verma & Mohanti 2009).

* Bij ratten werd een inhibitie van testosteron synthese gezien (Astiz et al. 2009).

* Bij ratten werd een daling van de schildklierhormonen T3 en T4 en een daling in lichaamsgewicht geobserveerd (Mahjoubi-Samet et al. 2005).

Persistentie en metabolisme

Dimethoaat wordt snel afgebroken in de omgeving, het bezit een halfwaardetijd van gemiddeld 20 dagen in de bodem en 8 dagen in water (extoxnet).

Ongeveer 75% van de organofosfaatpesticiden worden in het lichaam gemetaboliseerd tot dialkyl fosfaat metabolieten en geëxcreteerd via de urine. Deze metabolieten zijn op zichzelf niet toxisch. Dimethoaat wordt zeer snel gemetaboliseerd, bij mensen is na 24 uur 75 à 100% van de opgenomen dimethoaat geëxcreteerd, via urine, faeces en uitgedemde lucht (extoxnet).

Metabolieten dimethoaat: DMP dimethylfosfaat
 DMTP dimethylthiofosfaat
 DMDTP dimethyldithiofosfaat

Er is geen specifieke dimethoaat metaboliet gekend (Wessels et al. 2003).

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ DMP, DMTP en DMDTP in urine

Meting van de diethyl fosfaat metabolieten in de urine reflecteert de blootstelling aan organofosfaat pesticiden gedurende de voorbije dagen. Aangezien verschillende organofosfaatpesticiden gemetaboliseerd kunnen worden tot dezelfde diethyl fosfaat metabolieten, zijn deze metabolieten niet specifiek voor één bepaald pesticide. Zonder specifieke bijkomende informatie kan de blootstelling dus niet worden teruggebracht tot één of enkele specifieke pesticiden.

Observaties 2^e Steunpunt:

De chemische meting van DMP, DMTP en DMDTP was methodologisch soms problematisch omwille van het vluchtige karakter van de stoffen. Bij sommige meetreeksen was er een verlies aan standaard en was de onzekerheid op de meting te hoog, vooral voor DMDTP. Daarom werden sommige meetreeksen als onbetrouwbaar beschouwd en verwijderd uit de dataset.

% metingen boven de detectielimiet:	DMP 67,5 en 59,7% (LOD 3 µg/L)
(jongeren en volwassenen)	DMTP 94,6 en 89,5% (LOD 1 µg/L)
	DMDTP 34,4 en 39,7% (LOD 1 µg/L)

Analyse en kostprijs

➤ DMP, DMTP EN DMDTP

Analyse van DMP, DMTP en DMDTP werd in het 2^e Steunpunt reeds uitgevoerd door VITO-MANT. Voor analyse met GC-MS was 10mL urine nodig. De LOD voor de verschillende organofosfaatmetabolieten lag tussen 0,3 en 0,9 µg/L.

Meting van de organofosfaatmetabolieten kostte €95 per staal (gedateerde prijs).

Referentiewaarden

Vlaamse referentiewaarden voor DMP, DMTP en DMDTP uit het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid worden weergegeven in Tabel 38.

Tabel 38: Vlaamse referentiewaarden voor DMP, DMTP en DMDTP

Leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar
14-15	m/v	urine	DMP	5 µg/L (4,3-5,7)	'07-11
14-15	m/v	urine	DMP	3,8 µg/g crt (3,3-4,4)	'07-'11
14-15	m/v	urine	DMTP	5,8 µg/L (5,1-6,6)	'07-'11
14-15	m/v	urine	DMTP	4,4 µg/g crt (3,9-5)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DMP	4,1 µg/L* (3,6-4,7)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DMP	3,8 µg/g crt* (3,3-4,3)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DMTP	5 µg/L* (4,2-5,8)	'07-'11
20-40	m/v	urine	DMTP	4,6 µg/g crt* (3,9-5,4)	'07-'11
14-15	m/v	urine	DMDTP	>50% onder LOD	'07-'11
20-40	m/v	urine	DMDTP	>50% onder LOD	'07-'11

* geometrisch gemiddeld; uit Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011

In Tabel 39 kunnen internationale referentiewaarden teruggevonden worden voor de 3 organofosfaat metabolieten DMP, DMTP en DMDTP.

Tabel 39: Internationale referentiewaarden voor DMP, DMTP en DMDTP

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
6-7		urine	DMP	116,7 nmol/g crt*	2000	Italië ^d
6-7		urine	DMTP	104,3 nmol/g crt*	2000	Italië ^d
6-7		urine	DMDTP	14,1 nmol/g crt*	2000	Italië ^d
2-17		urine	DMP	10,7 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17		urine	DMTP	6,51 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
2-17		urine	DMDTP	0,65 µg/g crt*	'01-'02	GerES ^c
6-11		urine	DMP	1,71 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^e
6-11		urine	DMP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
6-11		urine	DMP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
12-19		urine	DMP	<LOD	'99-'00	NHANES ^e
12-19		urine	DMP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
12-19		urine	DMP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
20-59		urine	DMP	<LOD	'99-'00	NHANES ^e
20-59		urine	DMP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
20-59		urine	DMP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
6-11		urine	DMTP	2,95 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^e
6-11		urine	DMTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
6-11		urine	DMTP	3,40 µg/g crt*	'03-'04	NHANES ^e
12-19		urine	DMTP	1,71 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^e
12-19		urine	DMTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
12-19		urine	DMTP	1,66 µg/g crt*	'03-'04	NHANES ^e
20-59		urine	DMTP	1,47 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^e
20-59		urine	DMTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
20-59		urine	DMTP	1,88 µg/g crt*	'03-'04	NHANES ^e
6-11		urine	DMDTP	0,748 µg/g crt*	'99-'00	NHANES ^e
6-11		urine	DMDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
6-11		urine	DMDTP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
12-19		urine	DMDTP	<LOD	'99-'00	NHANES ^e
12-19		urine	DMDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
12-19		urine	DMDTP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
20-59		urine	DMDTP	<LOD	'99-'00	NHANES ^e
20-59		urine	DMDTP	<LOD	'01-'02	NHANES ^e
20-59		urine	DMDTP	<LOD	'03-'04	NHANES ^e
Kind-volw.	m/v	urine	DMP	135 µg/L*	2006	Duitsland ^d
Kind-volw.	m/v	urine	DMTP	160 µg/L*	2006	Duitsland ^d

*rekenkundig gemiddelde; ^cuit Becker et al. 2006 (Duitsland), ^duit C. Aprea et al., 2000 (uit Van Den Heuvel et al., 2007), * jaar van publicatie, ^duit Heudorf et al., 2006

Een overzicht van de biomerkers en hormoonverstorende eigenschappen van dimethoaat wordt getoond in Tabel 40. Het biocide is hormoonverstorend. Er is geen specifieke biomarker beschikbaar, wel zijn er 3 niet-specifieke metabolieten die als biomarker kunnen dienen voor blootstelling aan meerdere organofosfaatpesticiden.

Tabel 40: overzicht dimethoaat

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
organofosfaat	DMP	DMP	>50%	categorie 2 EU
	DMTP	DMTP	>50%	in vitro + in
	DMDTP	DMDTP	35-40%	proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection; DMP dimethylfosfaat; dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat

2.19. DICHLOORVOS

Dichloorvos is een organofosfaat insecticide, dat de werking van het acetylcholinesterase inhibeert. Dit zorgt voor het ophopen van acetylcholine (neurotransmitter) in de synapsen van de zenuwcellen waardoor een voordurende prikkel optreedt hetgeen uiteindelijk leidt tot de dood van het organisme. Het gebruik van dichloorvos is niet meer toegelaten in België (fytoweb); het mag enkel nog gebruikt worden om graansilo's te ontsmetten.

Toxiciteit

Blootstelling aan dichloorvos gebeurt via voeding (gebruik van organofosfaat insecticiden op landbouwgewassen en in tuinen), inademing (gebruik van organofosfaat insecticiden in huis) en dermaal contact. Niet-beroepsblootstelling is meestal sporadisch en kortdurend, omdat deze pesticiden afbreken in het milieu, maar blootstelling via de voeding kan meer chronisch zijn (Barr en Angerer 2006).

Organofosfaat pesticiden zijn toxisch voor de mens omdat ze de afbraak van acetylcholine kunnen inhiberen in het centraal en perifeer zenuwstelsel (cholinesterase inhibitoren) en daardoor kunnen leiden tot neurotoxische effecten. Blootstelling aan organofosfaat pesticiden zou ook verband houden met Parkinson (Bhatt et al., 1999; Le Couteur et al., 1999) en astma (Hoppin et al., 2002; Eskepazi et al., 1999). Organofosfaatpesticiden zouden volgens humane studies ook een invloed hebben op de ontwikkeling van de foetus (Landrigan et al., 1999), en geboortegewicht en –lengte (Perera et al., 2003). De ADI van dichloorvos bedraagt 0,004 mg/kg bw/dag (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Dichloorvos werd door het college van experts van de EU opgenomen in categorie 3a, wat betekent dat er geen wetenschappelijke basis is om het insecticide te klasseren als hormoonverstorend. Er zijn wel studies beschikbaar, maar geen indicaties dat er een endocrien verstorend effect aanwezig is.

Persistentie en metabolisme

Dichloorvos wordt zeer snel afgebroken in de omgeving, het bezit een halfwaardetijd van gemiddeld 7 dagen in de bodem en 4 dagen in water (extoxnet).

Ongeveer 75% van de organofosfaatpesticiden worden in het lichaam gemetaboliseerd tot dialkyl fosfaat metabolieten en geëxcreteerd via de urine. Deze metabolieten zijn op zichzelf niet toxisch. Binnen de groep van de organofosfaatpesticiden springt dichloorvos eruit omwille van het zeer snelle metabolisme in het lichaam en de zeer snelle excretie (extoxnet).

Metaboliet dichloorvos: DMP dimethylfosfaat

Er is geen specifieke dichloorvos metaboliet gekend (Wessels et al. 2003).

Biomerkers

De metaboliet DMP kan gemeten worden in urine, en weerspiegelt blootstelling van de voorbije dagen aan niet enkel dichloorvos, maar meerdere organofosfaatpesticiden. Meer informatie over DMP kan hogerop teruggevonden worden bij dimethoaat. Dichloorvos is in ons land niet meer toegelaten, en de stof is ook niet persistent.

Tabel 41: overzicht dichloorvos

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
organofosfaat	DMP	DMP	>50%	categorie 3a EU

Afkortingen: LOD limit of detection

2.20. DIURON

Diuron is een methyleureumverbinding en inhibeert het fotosynthese II systeem (Hill-reactie). Het is een systemisch herbicide dat wordt opgenomen via de wortels. In België is het niet toegelaten deze werkzame stof te gebruiken (Bijlage 1, Richtlijn nr. 91/414/EC).

Toxiciteit

Diuron is licht toxisch voor mensen, en kan opgenomen worden via inhalatie, ingestie of via de huid. Langdurige blootstelling is toxisch voor lever en huid. Beperkt bewijs geeft aan dat diuron niet carcinogeen is (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Diuron werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 2, wat betekent dat er bewijs is van endocriene verstoring. In de literatuur kunnen daarnaast ook enkele publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden in vitro en bij proefdieren:

- * In vitro werd geen effect geobserveerd op oestrogeen receptor activatie (Vinggaard et al. 1999).
- * Diuron opname via water of voeding bij hagedissen leidde tot een daling van testosteron en spermatogonia en tot structurele veranderingen in de testes (Cardone et al. 2008).
- * Diuron verdrijft testosteron van zijn androgeenreceptor in ratten, maar is hierin wel minder potent dan 3,4-DCA en linuron (Bauer et al. 1998).

Persistentie en metabolisme

Diuron bio-accumuleert niet. De halfwaardetijd in de bodem situeert zich tussen 1 maand en 1 jaar (extoxnet).

Metabolieten: 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline
 DCPMU 3,4-dichlorofenyl-3-methyl urea
 DCPU 3,4-dichlorofenyl urea

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ 3,4-DCA in urine

Dit wordt gebruikt bij de synthese van fenylureum en fenylcarbamaat herbiciden zoals diuron en linuron, en bij de productie van azo-kleurstoffen voor polyestervezels en bij de synthese van trichloorcarbanilide (een bactericide gebruikt in huishoudproducten zoals zeep en deodorant).

3,4-DCA werd reeds gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2e Steunpunt in mengstalen in urine, in geen enkele pool kon het gedetecteerd worden (LOD 0,5 µg/L).

3,4-DCA is geen specifieke biomarker voor diuron, het is ook een biomarker voor linuron, neburon en propanil (Wittke et al. 2001). 3,4-DCA (CAS 95-76-1) staat zelf in categorie I in de lijst met hormoonverstoorders van de EU.

- Wittke et al. 2001: LOD 0,03 µg/L na meting met GC-MS/MS
 LOD 0,05 µg/L na meting met GC-ECD
 range 0,13-0,34 µg/g crt
- Turci et al. 2006: analyse met GC-MS/MS
 LOD 0,005 µg/L
 81,7% > LOD
 range 0,01-6,19 µg/L

In het Steunpunt Milieu & Gezondheid kon 3,4-DCA niet gedetecteerd worden in de gepoolde stalen, detectie was wel mogelijk in de studies in Duitsland en Italië. In deze studies lag de detectielimiet dan ook een factor 10 lager.

➤ DCPU en DCPMU in urine

Deze werden gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2e Steunpunt in mengstalen in urine, ze lagen in alle pools onder de detectielimiet (LOD DCPU: 0,5 µg/L; LOD DCPMU: 0,25µg/L).

DCPU en DCPMU zijn ook niet specifiek voor diuron, het zijn ook biomerkers voor linuron.

Analyse en kostprijs

Analyse van 3,4-DCA, DCPU en DCPMU werd in het 2^e Steunpunt reeds uitgevoerd door Richrom. Voor analyse met LC-MS was 25 mL urine nodig. De LOD voor de verschillende anilinemetabolieten lag tussen 0,1 en 1 ng/mL.

Meting van de anilinemetabolieten kostte €150 per staal (gedateerde prijs).

Momenteel beschikken ze bij Richrom over nieuwere apparatuur waarmee gevoeliger gemeten kan worden, dit zou een LOD opleveren die een factor 10 lager ligt dan de LOD in het 2^e Steunpunt. De prijs voor deze gevoeliger metingen werd reeds opgevraagd.

Referentiewaarden

Vlaamse en internationale waarden voor 3,4-DCA, DCPU en DCPMU kunnen hogerop teruggevonden worden in Tabel 22 en Tabel 23.

Een overzicht van hormoonverstorende eigenschappen en biomerkers van diuron kan teruggevonden worden in Tabel 42. Diuron werkt hormoonverstorend. Er zijn 3 biomerkers beschikbaar, maar deze zijn niet specifiek voor diuron. De metingen zaten in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid allemaal onder de detectielimiet, maar 2 studies in Duitsland en Italië konden 3,4-DCA wel meten en beschikten over een detectielimiet die 10 keer lager lag dan in de Vlaamse biomonitoring.

Tabel 42: overzicht diuron

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
fenyl ureum herbicide	3,4-DCA	3,4-DCA in urine	<LOD	categorie 2 EU
	DCPU	DCPU in urine	<LOD	in vitro + in
	DCPMU	DCPMU in urine	<LOD	proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline; DCPMU 3,4-dichlorofenyl-3-methyl urea; DCPU 3,4-dichlorofenyl urea

2.21. ENDOSULFAN

Endosulfan is een mengsel van twee vormen van hetzelfde product alfa- en beta-endosulfan. Het is een gechloreerd koolwaterstof insecticide en acaricide behorend tot de cyclodiene subgroep. Het is een axionisch gif dat inwerkt op de Na⁺/K⁺-pompen waardoor zenuwimpulsen worden verstoord. Het kan gebruikt worden als bewaarmiddel voor hout, maar wordt voornamelijk toegepast op een heel aantal gewassen zoals, thee, koffie, fruit, groenten, rijst, granen en mais (extoxnet). In België is het niet toegelaten deze werkzame stof te gebruiken (Bijlage 1, Richtlijn nr. 91/414/EC).

Toxiciteit

Blootstelling gebeurt vooral via ingestie en dermaal contact, toxiciteit via inhalatie is veel kleiner (extoxnet). Endosulfan is zeer toxisch via orale opname en dermaal contact, maar is niet irriterend voor ogen en huid. Het is vooral toxisch voor het centraal zenuwstelsel; symptomen zijn coördinatieproblemen, moeilijk ademen, kokhalzen, overgeven, diarree, agitatie, convulsies, verlies van bewustzijn. Endosulfan zou niet carcinogeen zijn, wel is er al bewijs dat het mutageen zou zijn (extoxnet). De ADI van endosulfan bedraagt 0,006 mg/kg/dag.

hormoonverstorende eigenschappen

Endosulfan werd door het college van experts van de EU ingedeeld in categorie 2, wat betekent dat er bewijs is van endocriene verstoring. In de literatuur kunnen daarnaast ook enkele publicaties teruggevonden worden, waarbij hormoonverstorende eigenschappen aangetoond werden bij proefdieren:

- * Bij ratten werden structurele defecten aan de eierstokken en minder gezonde follikels geobserveerd (Koc et al. 2009).
- * In vivo werkt endosulfan verstorend op de reproductieve hormonen bij mannelijke dieren, niet bij vrouwelijke dieren. Anderzijds verstoort het de schildklierhormonen niet (atsdr).

Persistentie en metabolisme

Endosulfan bezit een halfwaardetijd van gemiddeld 50 dagen in de omgeving (extoxnet).

Het wordt snel gemetaboliseerd en geëlimineerd uit het lichaam (dagen tot weken, extoxnet).

Metabolieten: endosulfan-ether
 endosulfan-lactone
 endosulfan-sulfaat

Biomerkers*Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten*

- Dalvie et al. 2009: blootstelling van de afgelopen dagen wordt gemeten in serum
 waarde bij landbouwers: 530 µg/L.
- Belgische moedermelkcampagne: niet boven de detectielimiet
- NHANES: meting van de 3 metabolieten in de periode '03-'04, '05-'06, '07-'08 en '09-'10.

Endosulfan werkt hormoonverstorend en er is een specifieke biomarker beschikbaar, maar de metingen in de literatuur geven vooral waarden aan beneden de detectielimiet. Een overzicht is terug te vinden in Tabel 43. Endosulfan wordt in ons land niet meer toegelaten en is niet persistent.

Tabel 43: overzicht endosulfan

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
gechloreerd koolwaterstof insecticide	endosulfan ether endosulfan lactone endosulfan sulfaat	endosulfan in serum of moedermelk	<LOD	categorie 2 EU in vitro + in proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection

2.22. MANCOZEB

Mancozeb is een niet-systemisch carbamaat fungicide, meer bepaald een ethyleenbisdithiocarbamaat (EBDC), met een specifieke, multisite inwerking op thiol-verbindingen. Dithiocarbamaten worden wereldwijd gebruikt als breedwerkende fungiciden in de landbouw. Dithiocarbamaten kunnen worden onderverdeeld in drie groepen: ethyleenbisdithiocarbamaten (EBDC) zoals maneb, zineb en mancozeb, dimethyldithiocarbamaten (DMDC) zoals ferbam, ziram en thiram, en propyleenbisdithiocarbamaten, zoals propineb. Ethyleenthioureum (ETU) is één van de belangrijkste metabolieten van EBDC's en wordt geassocieerd met de meeste toxische effecten van EBDC's (Houeto et al., 1995). In België wordt mancozeb gebruikt in de fruit-, sier-, graan- en aardappel- en groententeelt, en voor de behandeling van roest bij tarwe, gerst, rogge en haver. Mancozeb wordt toegelaten voor gebruik in België, het is de werkzame stof in verscheidene formuleringen (fytoweb).

Toxiciteit

Blootstelling aan mancozeb komt tot stand via inademing bij het toedienen van het bestrijdingsmiddel, en via opname via de voeding. Hoog blootgestelde groepen zijn landbouwers en consumenten.

ETU heeft een lage acute toxiciteit, maar heeft bij proefdieren een effect op de schildklier alsook teratogene, carcinogene, immunotoxische en mutagene effecten (Houeto et al., 1995; EPA, 2000; Health Council of the Netherlands, 1999). Bij de mens hebben EBDC's en ETU een irriterende en allergische werking op de huid (Health Council of the Netherlands, 1999).

Op basis van dierproeven klasseert IARC ETU in groep 3: niet klasseerbaar als carcinogeen voor de mens (IARC, 2001). Von Meyer (1977) vond een trend tussen blootstelling aan dithiocarbamaten en het voorkomen van lever- en schildklierkankers bij de mens. Dierproeven toonden ook aan dat ETU in aanwezigheid van natriumnitriet aanleiding geeft tot een vroegtijdige ontwikkeling van tumoren, vermoedelijk door de vorming van N-nitroso-ETU (Health Council of the Netherlands, 1999).

hormoonverstorende eigenschappen

Mancozeb werd door het college van experts van de EU geklasseerd in categorie 1, wat betekent dat er duidelijk bewijs is van endocriene verstoring. Daarnaast staat ook de metaboliet ETU in dezelfde categorie I. Ook in de literatuur werden een aantal publicaties aangetroffen waarin hormoonverstoring werd vastgesteld bij proefdieren:

- * Bij ratten werd een daling van het schildklierhormoon T4 gezien (Axelstad et al. 2011).
- * In forel inhibeert mancozeb de cortisolsecretie (Bisson and Hontela 2002).
- * Bij ratten werden structurele en functionele veranderingen van de schildklier aangetroffen, meer bepaald een stijging van de schildklier/lichaamsgewicht ratio en een daling van het schildklierhormoon T4 (Kackar et al. 1997).
- * Bij ratten werden een daling in het gewicht van de testes, een daling van het aantal spermacellen, en een aantal biochemische veranderingen geobserveerd (Kackar et al. 1997).

Persistentie en metabolisme

Mancozeb wordt snel gedegradeerd in bodem en water, met halfwaardetijden van 1 tot 7 dagen (extoxnet).

De voornaamste metaboliet van mancozeb is ethyleenthioureum (ETU), dit is ook een metaboliet van de andere EBDC's. De halfwaardetijd in de mens van EBDC's bedraagt 32-100 uur (Kurtio & Savolainen 1990), de halfwaardetijd van ETU in humane urine situeert zich tussen 1,5 en 7 uur (Pennanen et al. 2005).

Biomerkers

Beschikbaarheid, specificiteit en detectielimieten

➤ ETU in urine

ETU werd reeds gemeten in de referentiebiomonitoring van het 2^e Steunpunt in mengstalen. Het werd gedetecteerd in alle stalen bij de jongeren en in 3 van de 5 stalen bij de volwassenen (LOD 0,1 µg/L).

ETU is een biomarker voor alle EBCD's, niet specifiek voor mancozeb, zineb of maneb.

ETU werd niet gemeten in GerES, wel in NHANES 2003-2004, daar lagen veel waarden onder de detectielimiet.

Analyse en kostprijs

Analyse van ETU in mengstalen werd in het 2^e Steunpunt reeds uitgevoerd door Richrom. Voor analyse met GC-MS was 25 mL urine nodig. De LOD bedroeg 0,1 µg/L. Meting van ETU kostte €140 per staal (gedateerde prijs).

Referentiewaarden

Een overzicht van de waarden die gemeten werden in mengstalen in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid wordt getoond in Tabel 44.

Tabel 44: Vlaamse waarden in mengstalen voor ETU

Leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar
14-15	m/v	urine	ETU	0,93 µg/g crt	2007-2011
14-15	m/v	urine	ETU	1,14 µg/g crt	2007-2011
14-15	m/v	urine	ETU	1,15 µg/g crt	2007-2011
14-15	m/v	urine	ETU	0,83 µg/g crt	2007-2011
14-15	m/v	urine	ETU	0,57 µg/g crt	2007-2011
20-40	m/v	urine	ETU	9,13 µg/g crt	2007-2011
20-40	m/v	urine	ETU	1,86 µg/g crt	2007-2011
20-40	m/v	urine	ETU	<LOD	2007-2011
20-40	m/v	urine	ETU	<LOD	2007-2011
20-40	m/v	urine	ETU	1,18 µg/g crt	2007-2011

uit Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011: resultatenrapport deel referentiebiomonitoring (2010)

ETU werd in een aantal internationale studies gemeten, een overzicht is terug te vinden in Tabel 45.

Tabel 45: Internationale referentiewaarden voor ETU

leeftijdsgroep	geslacht	matrix	biomarker	waarde	jaar	land
>18	m/v	urine	ETU	8,7–429 μmol/mol crt ⁺	2005	Finland ^a
gemiddelde populatie	m/v	urine	ETU	0,8 – 8,3 μg/g crt ⁺	1996	Italië ^b
26-34	m/v	urine	ETU	0,6-6,7 μg/g crt ⁺	1997	Italië ^c
gemiddelde populatie	m/v	urine	ETU	0,5 – 11,6 μg/g crt ⁺	2006	Italië ^d
controle groep na blootstelling (wijnngaarden)	m/v m/v	urine	ETU	< 1,6 μg/g crt ⁺ < 1,6 – 40,1 μg/g crt ⁺	2005	Italië ^e
volwassenen	m/v	urine	ETU	<0,2–14,3 μg/g crt ⁺	2007- 2008	UK ^f
volwassenen	m/v	urine	ETU	<LOD	'03-'04	NHANES ^g

⁺range *jaar van publicatie, ^a Pennanen et al., 2005; ^b Aprea et al., 1996; ^c Aprea et al., 1997; ^d Colosio et al., 2006; ^e Fustinonia et al., 2005; ^f Jones et al., 2009; ^g uit NHANES 2012

Een overzicht van de biomerkers en hormoonverstorende eigenschappen van mancozeb wordt weergegeven in Tabel 46. Mancozeb werkt hormoonverstorend in proefdieren, en er is een gekende biomarker beschikbaar die in het 2^e steunpunt in mengstalen gedetecteerd werd, maar deze biomarker is niet specifiek voor mancozeb.

Tabel 46: overzicht mancozeb

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
ethyleenbisdi-thiocarbamaat	ETU	ETU	>50%	categorie 1 EU in vitro + in proefdieren

afkortingen: LOD limit of detection; ETU ethyleenthioureum

2.23. SIMAZINE

Simazine is een triazine verbinding en inhibeert het fotosynthese II systeem (Hill-reactie). Het is een selectief systemisch herbicide dat de oxydatieve fosforylering inhibeert. Simazine zorgt eveneens voor een verhoogde opname van nitraten en een verhoging van de vorming van proteïnen. In België is het niet toegelaten deze werkzame stof te gebruiken (Bijlage 1, Richtlijn nr. 91/414/EC).

Toxiciteit

Simazine wordt door EPA geclassificeerd in klasse IV (practically non-toxic). Er is geen duidelijkheid over eventuele carcinogene effecten. De referentiedosis (RfD) bedraagt 0,005 mg/kg bw/dag (extoxnet).

hormoonverstorende eigenschappen

Simazine werd door het college van experts geklasseerd in categorie 2, wat wil zeggen dat er bewijs is van endocriene verstoring. Ook in de literatuur kunnen een aantal publicaties gevonden worden die duiden op hormoonverstoring door simazine:

- * Bij ratten vertraagt simazine de puberteit en leidt het tot een daling van prolactine in serum (Zorilla et al. 2010).
- * Bij ratten wordt een stijging gezien van adrenocorticotropin hormoon, cortisol en progesteron (Laws et al. 2009).
- * Simazine induceert aromatase activiteit in een humane H295R adrenocorticale carcinoma cellijn (Sanderson et al. 2000).

Persistentie en metabolisme

Halfwaardetijden in bodem tussen 28 en 149 dagen werden gerapporteerd voor simazine, gemiddeld geldt een halfwaardetijd van 60 dagen. In water bezit simazine een halfwaardetijd van ongeveer 30 dagen (extoxnet).

Biomerkers

- simazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ 0,2 µg/L
1% > LOQ
- simazine mercapturaat in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ 0,06 µg/L
8% > LOQ
- hydroxysimazine in urine
 - Chevrier et al. 2011: LOQ 0,02 µg/L
9% > LOQ

Er is weinig informatie te vinden over humane biomonitoring voor simazine, in de gevonden studie zaten meer dan 90% van de stalen onder de detectielimiet. Simazine wordt in België niet meer toegelaten en is niet persistent. Een overzicht wordt gegeven in Tabel 47.

Tabel 47: overzicht simazine

Groep	Metaboliet	Gekende biomarker(s)	>LOD	Hormoonverstoring
triazine herbicide	simazine-	simazine	<LOD	categorie 2 EU in vitro + in proefdieren
	mercapturaat	simazine-mercapt	<LOD	
	hydroxysimazine	hydroxy-simazine	<LOD	

afkortingen: LOD limit of detection

DEEL III: CONCLUSIE SELECTIE BESTRIJDINGSMIDDELEN

In Tabel 48 wordt een overzicht gegeven van de verschillende criteria waarmee rekening gehouden wordt bij de selectie van 3 biomerkers van bestrijdingsmiddelen die geoptimaliseerd werden in een beperkte veldstudie. Criteria die in rekening gebracht werden zijn de prioriteit na rangschikking naar voorkomen in het milieu en gebruik, toelating voor gebruik in België, classificatie als hormoonverstorend door EU, hormoonverstorende eigenschappen teruggevonden in de literatuur, de beschikbaarheid van een biemerker, en de detecteerbaarheid en specificiteit van die biomerkers. Afweging van deze factoren leidt tot een prioritering in 3 categorieën: **hoog**, **medium** of **laag**.

Tabel 48: Overzicht criteria en prioritering van de verschillende bestrijdingsmiddelen

Naam	Gebruik in België	Persistentie		Gebruik	Blootstelling mens	Hormoon-verstoring		Biemerker					Prioriteit
		Bodem	Lichaam			EU	literatuur	ja/nee	naam	>LOD	specifiek	Prijs per staal (€)	
Glyfosaat	ja	niet persistent	accumuleert niet	landbouw + openbare instanties	voeding + oppervlakte-water	IIIa	ja	ja	glyfosaat	4-88%	ja	193,75	hoog
Flufenacet	ja	matig persistent	accumuleert niet	landbouw + openbare instanties	oppervlaktewater	/	nee	nee					laag
Isoproturon	ja	niet persistent	accumuleert niet	landbouw	drink -en oppervlaktewater	/	weinig	nee					laag
Linuron	ja	niet	accumuleert	landbouw	drink -en	I	ja	ja	3,4-DCA	0-82%	nee	225,00	medium

		persistent	niet		oppervlaktewater				DCPU	onder	nee		laag
									DCPMU	onder	nee		laag
MCPA	ja	niet persistent	accumuleert niet	landbouw + openbare instanties	oppervlaktewater	/	nee	ja	MCPA	20-100%	ja		laag
Metolachloor	ja	matig persistent	accumuleert niet	landbouw	drink -en oppervlaktewater	/	weinig	ja	mercaptur.	2-96%	ja		laag
Piperonyl butoxide	ja	niet persistent	accumuleert niet	hulpstof + openbare instanties	voeding	II	ja	ja	pip but	/	ja		medium
Terbutyl-azine	ja	persistent	accumuleert niet	landbouw	drink -en oppervlaktewater	/	nee	ja	terbuthyl-azine	/	ja		laag
Carbendazim	ja	niet persistent	accumuleert niet		voeding + oppervlakte-water	II	ja	ja	5-HBC	soms	ja		medium
Atrazine	nee	niet persistent	accumuleert niet		drink -en oppervlaktewater	I	ja	ja	atrazine	onder	ja		laag
Chloorpyrifos	ja	niet persistent	accumuleert niet	openbare instanties	voeding	IIIa	ja	ja	TCPY	>50%	ja	298,33*	hoog
									DEP	>50%	nee		medium
									DETP	23-32%	nee		
Cypermethrine	ja	niet persistent	accumuleert niet	openbare instanties	voeding	II	ja	ja	3-PBA	>50%	nee	100,00**	medium
									DCVA	onder	nee		laag

Dichloorvos	nee	niet persistent	accumuleert niet		voeding + oppervlakte-water	IIIa	ja	ja	DMP	>50%	nee		laag
Dimethoate	ja	niet persistent	accumuleert niet		voeding + oppervlakte-water	II	ja	ja	DMP	>50%	nee		medium
									DMTP	>50%	nee		
									DMDTP	35-40%	nee		
Diuron	nee	matig persistent	accumuleert niet		drink -en oppervlaktewater	II	ja	ja	3,4-DCA	0-82%	nee	225,00	medium
									DCPU	onder	nee		laag
									DCPMU	onder	nee		laag
Endosulfan	nee	niet persistent	accumuleert niet		voeding -en oppervlaktewater	II	ja	ja	endosulfan	onder	ja		laag
Mancozeb	ja	niet persistent	accumuleert niet	landbouw + openbare instanties		I	ja	ja	ETU	>50%	nee	225,00	hoog
Simazine	nee	matig persistent	accumuleert niet		drink -en oppervlaktewater	II	ja	ja	simazine	onder	ja		laag

Na afweging van de verschillende factoren komen in de eerste plaats glyfosaat, chloorpyrifos en mancozeb als meest prioritaire bestrijdingsmiddelen naar voor, gevolgd door linuron (en diuron), piperonyl butoxide, carbendazim, cypermethrine en dimethoat.

Glyfosaat staat als eerste gerangschikt naar gebruik en voorkomen in het milieu in België. De beschikbaarheid van Vlaamse en internationale referentiewaarden is beperkt. De detectielimieten voor glyfosaatmetingen in urine variëren tussen 0,1 en 1 µg/L. Het aantal personen met een waarde boven de detectielimiet bevindt zich tussen 60 en 75% bij landbouwers, en tussen 4 en 88% bij niet-landbouwers. Een optimalisatie van de meetmethode is vereist.

Glyfosaat is opgenomen in categorie 3a van de hormoonverstoorders door EU, wat betekent dat er geen bewijs is van endocriene verstoring. In de internationale literatuur verschenen anderzijds verscheidene publicaties over een hormoonversturende werking van glyfosaat of glyfosaat formuleringen zoals het product RoundupTM.

De gemeenschappelijke biomarker voor de groep van de **ethyleenbisdithiocarbamaten (EBDC's)** is ETU. Deze biomerkers werd reeds gemeten in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid en werd teruggevonden in mengstalen. Deze biomarker is een maat voor de totale blootstelling aan EBDC's (maneb, zineb, mancozeb). In de literatuur werden een aantal publicaties teruggevonden rond hormoonversturende effecten van mancozeb, de stof staat in de lijst van de EU in categorie 1. Een specifieke biomarker voor mancozeb is niet beschikbaar, maar het is wel een mogelijkheid om via monitoring van ETU in urine de totale blootstelling aan EBDC's te meten. ETU wordt ook geassocieerd met de meeste toxische effecten van EBDC's en staat zelf in categorie 1 in de lijst met hormoonverstoorders van de EU.

Voor de **organofosfaat pesticiden (chloorpyrifos, dichloorvos en dimethoat)** bestaan verscheidene niet-specifieke metabolieten, namelijk DEP, DETP, DMP, DMTP en DMDTP. Deze 5 metabolieten werden reeds gemeten in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid. DEP, DMP en DMTP werden in meer dan 50% van de stalen gedetecteerd, DETP en DMDTP zaten tussen 23 en 50% boven de detectielimiet. Een meting van al deze metabolieten is een maat voor de totale blootstelling aan organofosfaat pesticiden. Monitoring van DEP en DETP in urine weerspiegelt blootstelling aan chloorpyrifos, diazinon, chloorfenvinfos, disulfoton, parathion, quinalfos en terbufos; DMP, DMTP en DMDTP meting is een maat voor blootstelling aan malathion, dimethoat, azinfos-methyl, demeton-S-methyl, dichloorvos, fenthion, heptenofos, mevinfos, parathion-methyl, pirimifos-methyl en tolclofos-methyl.

Naast een meting van de totale blootstelling aan organofosfaat metabolieten, is het ook mogelijk om voor enkelen hiervan een specifieke meting in urine uit te voeren. Voor chloorpyrifos kan TCPy gemeten worden dat in de meerderheid van de studies in de internationale literatuur boven de detectielimiet teruggevonden werd. Voor deze specifieke biomarker was een optimalisatie van de meetmethode nodig.

Carbendazim staat in categorie 2 in de lijst met hormoonverstoorders van de EU, en kan gemeten worden via de metaboliet 5-HBC in urine. Wel zijn er slechts weinig gegevens beschikbaar over humane biomonitoring van carbendazim en zijn metabolieten. In een studie van Leenheers et al. uit 1993 wordt 5-HBC gemeten mbv HPLC, de detectielimiet lag op 5 µg/L. Er wordt gerapporteerd dat 5-HBC soms werd gedetecteerd bij niet beroepsblootgestelden. Met behulp van nieuwere technieken zou het mogelijk moeten zijn om de detectielimiet naar beneden te halen, waardoor een meting van carbendazim via de 5-HBC metaboliet mogelijk kan zijn. Een optimalisatie van de meetmethode zou dan wel vereist zijn.

De metaboliet van **linuron** 3,4-DCA werd gemeten in mengstalen in het 2^e Steunpunt, en kon niet gedetecteerd worden. De detectielimiet bedroeg 0,5 µg/L. Echter, in twee studies in Duitsland (Wittke et al.) en Italië (Turci et al.) werden detectielimieten gehanteerd die respectievelijk 10 en 100

keer lager zaten. Via nieuwere apparatuur zou ook door Richrom, het laboratorium dat de metaboliet in het 2^e Steunpunt heeft gemeten, de detectielimiet van 0,5 µg/L met een factor 10 verlaagd kunnen worden. 3,4-DCA meting in urine weerspiegelt niet enkel blootstelling aan linuron, maar aan meerdere aniline herbiciden, zoals **diuron**. Deze laatste wordt in België niet meer toegelaten voor gebruik. Linuron is een hormoonverstoorder en werd ingedeeld in categorie 1 door het college van experts van de EU, ook 3,4-DCA staat in diezelfde categorie.

Cypermethrine is een pyrethroïde pesticide dat gemeten kan worden via de niet-specifieke metaboliet **3-PBA**. Dit zou een maat geven voor blootstelling aan cypermethrine, fenvalerate, deltamethrine, cyhalothrine, permethrine en phenothrine, wat ook interessant zou zijn aangezien pyrethroïden veel gebruikt worden. 3-PBA werd reeds gemeten in het Steunpunt Milieu & Gezondheid in mengstalen en werd in 6 van de 10 pools gedetecteerd. In de Amerikaanse en Duitse biomonitoringscampagnes NHANES en GerES werd 3-PBA respectievelijk bij 70 en 90% van de deelnemers gedetecteerd. Cypermethrine werd door de EU geklasseerd in categorie 2, ook in de internationale literatuur rapporteren verscheidene studies endocrien verstorende effecten.

De hulpstof **piperonyl butoxide** wordt in ons land zeer veel gebruikt, voornamelijk als synergist bij de pyrethroïde pesticiden, en wordt door het panel van de EU ingedeeld in categorie 2. Voor zover dit teruggevonden kon worden, werd de stof slechts in één studie gemeten in urine, maar het werd enkel in 1 op 12 stalen gedetecteerd bij kinderen in een Spaans landbouwgebied. De detectielimiet in deze studie bedroeg 0,15 µg/L. Een optimalisatie van de meetmethode is nodig, de uitkomst hiervan is onzeker.

Na afweging van de verschillende factoren werden uiteindelijk volgende bestrijdingsmiddelen geselecteerd voor optimalisatie in de veldstudie:

Werkzame stof	Type bestrijdingsmiddel	Biomarker
glyfosaat	herbicide	glyfosaat in urine
chloorpyrifos	organofosfaat pesticide	TCPy in urine
mancozeb	fungicide	ETU in urine
linuron	herbicide	3,4-DCA in urine

HOOFDSTUK 3. VELDWERK

De meting van de 4 geselecteerde biomerkers, glyfosaat, TCPy, ETU en 3,4-DCA, wordt vervolgens praktisch geëvalueerd in een beperkte veldstudie waarin een kleine testpopulatie van mogelijk hoog blootgestelde personen opgenomen wordt.

De veldstudie heeft als doel het Vlaamse biomonitoringsprogramma met betrekking tot hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen te optimaliseren. We willen onderzoeken 1) of de 4 geselecteerde pesticides meetbaar zijn, 2) wat de meetniveaus zijn, 3) of we de meetmethode kunnen optimaliseren, 4) welke intra –individuele variabiliteit er is, en 5) indien mogelijk willen we informatie verzamelen over mogelijke invloedsfactoren.

Op basis van de resultaten van de metingen kunnen dan aanbevelingen geformuleerd worden met het oog op toekomstige biomonitoringscampagnes.

Het project werd voorgelegd aan de ethische commissie van het Universitair Ziekenhuis Antwerpen/Universiteit Antwerpen en werd goedgekeurd in juli 2012.

3.1. SELECTIE EN REKRUTERING VAN DE DEELNEMERS

Jongeren met een leeftijd tussen 14 en 15 jaar konden deelnemen. Er werd gekozen voor jongeren woonachtig in de fruitstreek omdat zij mogelijk blootgesteld werden aan verscheidene bestrijdingsmiddelen die gebruikt worden in de fruitteelt. Adolescenten van deze leeftijd werden ook opgenomen in het Steunpunt Milieu & Gezondheid, in het tweede luik hiervan bleek reeds dat voor een aantal bestrijdingsmiddelen de gemiddelde waarden bij jongeren hoger lagen dan bij de volwassenenpopulatie (o.a. de organofosfaat pesticiden, para-dichlorobenzeen).

Om voldoende deelnemers te kunnen rekruteren werd een informatiebrochure met uitleg over de studie bezorgd aan potentiële deelnemers via de Scholengroep Onze-Lieve-Vrouw Sint-Truiden, Campus Tuinbouw, via het ProefCentrum Fruitteelt (PCFruit) en via de gemeente Sint-Truiden. Deze informatiebrochure bevatte informatie over het verloop van de studie, wat er verwacht werd van de deelnemers, wat er gebeurde met de resultaten en een kort stukje uitleg over elk van de bestrijdingsmiddelen die gemeten werden (zie bijlage III). Er werd een beloning (twee filmtickets) voorzien voor alle deelnemers.

In totaal werden 11 adolescenten gerekruteerd die voornamelijk wonen in de fruitstreek in Limburg. Het aantal deelnemers werd bepaald overeenkomstig het beschikbare budget voor de metingen van de biomerkers. Er was een budget van €10.000,00 voorzien voor de laboratoriumanalyses. In Tabel 49 wordt een overzicht gegeven van de prijzen per biomarker en het overeenkomstig aantal deelnemers. Bij 10 deelnemers werden de 4 geselecteerde biomerkers gemeten. De 11^e deelnemer is familie van één van de andere deelnemers, daarom werd om binnen het voorziene budget te blijven beslist om voor deze deelnemer enkel glyfosaat en 3,4-DCA te meten. Er werd beslist om voor deze deelnemer glyfosaat en 3,4-DCA te meten, omdat deze deelnemer in de vragenlijst aangaf dat ze recent in contact was gekomen met glyfosaat en linuron.

Tabel 49: Overzicht analysebudget

biomarker	Prijs per staal	aantal deelnemers	Totale prijs
glyfosaat	€ 55	11	€ 605
TCPy + OP metaboliëten	€298,33	10	€2983,30
ETU	€225,00	10	€2250,00
3,4-DCA	€225,00	11	€2475,00
creatinine en soortelijk gewicht	€5,00	11	€55,00
Totaal analysebudget			€ 8368,3

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, OP organofosfaat, ETU ethyleenthioureum, 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline

3.2. STUDIEPROTOCOL

Aan de deelnemers werd gevraagd om een staal ochtendurine te verzamelen. Dit diende te gebeuren in een potje dat door VITO vooraf bezorgd werd (getest door laboratoria), gemerkt met het studienummer. De privacy van de deelnemers werd beschermd door het gebruik van unieke codenummers. Op de dag van de urinecollectie vulden de deelnemers een korte vragenlijst in, daarnaast ondertekenden zowel de jongeren als één van de ouders het toestemmingsformulier ('informed consent'). Alles werd de dag van de urinecollectie terug opgehaald door VITO.

Er werd minimum 80 mL urine gevraagd van de deelnemers. Dit is een relatief klein volume voor een staal ochtendurine. De reststalen werden bewaard in een biobank (-80°C) voor eventuele toekomstige analyses.

De vragenlijst (zie bijlage IV) die de deelnemers op papier invulden op de dag van de urinecollectie bevatte volgende gegevens:

- ✓ algemene gegevens nodig voor de beschrijving van de deelnemers (bv. leeftijd, opleiding, woonomgeving, ...);
- ✓ vragen die nodig zijn om de chemische metingen te interpreteren (bv. roken, gebruik van bestrijdingsmiddelen, ...).

3.3. LABORATORIUMANALYSES

De chemische analyses werden uitgevoerd door laboratoria die voldoen aan de gestelde kwaliteitscriteria en die reeds ervaring hebben met het optimaliseren en uitvoeren van dat type van metingen. De laboratoria moesten voldoen aan de minimale vereisten van zuiverheid van de recipiënten, informatie hebben over detectielimieten, ervaring hebben met de analyses en/of eventueel deelnemen aan internationale ringtesten. Validatiedossiers moesten opgesteld worden voor elke meting en aan VITO teruggekoppeld worden.

3.3.1. GLYFOSAAT

In eerste instantie was de meting van glyfosaat uitbesteed aan Richrom. Op basis van de literatuur en de beschikbare apparatuur had Richrom voorzien om een methode te ontwikkelen met LC-MS/MS met een voorziene detectielimiet (LOD) van 0,5 µg/L en kwantificatielimiet (LOQ) van 1,0 µg/L. De eenheidsprijs per meting bedroeg 175€. Richrom deed een methode optimalisatie, maar slaagde er niet in om een LOD lager dan 5 µg/L te bekomen. Op basis van de literatuur, waar detectielimieten van 0,1 tot 1 µg/L worden gerapporteerd, is dit niet voldoende laag.

In tweede instantie werd nagekeken of het mogelijk is om glyfosaat te bepalen met behulp van een ELISA methode. De infrastructuur om ELISA's uit te voeren is beschikbaar bij VITO. Er wordt een ELISA kit aangeboden voor het meten van glyfosaat in de urine door Biosense Laboratories. De prijs van 1 kit bedraagt 675€ (excl. BTW); met 1 kit kunnen 36 metingen gebeuren. De LOD van de ELISA methode bedraagt 7,5 µg/L, dit is dus hoger dan de LOD van de chemische meting bij Richrom. Meting met een ELISA kit was dus ook geen optie.

Via contacten met buitenlandse HBM experts werd er doorverwezen naar het medisch laboratorium Bremen (Medizinischer Labor Bremen, <http://www.mlhb.de>). Zij hadden recent een methode ontwikkeld voor het meten van glyfosaat en AMPA (= metaboliet van glyfosaat) in urine via GC-MS/MS. Ze rapporteerden een kwantificatielimiet (LOQ) van 0,2 µg/L voor beiden. De kostprijs bedroeg 55€ per staal. De contactpersoon in het laboratorium meldde ook dat er momenteel een validatiestudie in 5 EU landen loopt, gefinancierd door BUND. Omwille van de krappe tijdslijn werd beslist om alle stalen op te sturen naar Bremen.

Glyfosaat en AMPA werden gemeten in urine door het medisch laboratorium Bremen (overzicht zie Tabel 50).

Glyfosaat en zijn urinaire metaboliet AMPA werden met behulp van een GC-MS/MS methode gedetecteerd. De analyten in de urine werden met Trifluorethanol (TFE) en Trifluor azijnzuur anhydride (TFAA) gederiviseerd, vervolgens in acetonitril opgelost en d.m.v. GC-MS/MS in NCI modus bepaald. De kwantificatie gebeurde met behulp van isotopen-gelabelde standaarden. De detectielimiet (LOD) en kwantificatielimiet (LOQ) werden bepaald op basis van de helling en het intercept met de x-as van de calibratiecurves volgens DIN 32645. Voor beiden analyten werd een LOD van 0,05 µg/L en een LOQ van 0,2 µg/L bereikt, met een precisie in serie van ca. 10% en een recovery van 96-103%. De precisie van dag tot dag bedroeg 12%. Parallele metingen met verschillende polaire kolommen gaven een goede correlatie ($R=0,993$) voor glyfosaat en demonstrenen bijgevolg de hoge specificiteit van de methode.

Voor de meting van glyfosaat en AMPA is geen EQUAS ringtest beschikbaar.

Tabel 50: Overzicht laboratoriumanalyse glyfosaat.

Biomarker	Lab	Methode	LOD	LOQ
glyfosaat	Medisch Laboratorium Bremen	GC-MS/MS	0,05 µg/L	0,2 µg/L
AMPA	Medisch Laboratorium Bremen	GC-MS/MS	0,05 µg/L	0,2 µg/L

Afkortingen: LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; GC-MS/MS gas chromatography-mass spectrometry mass spectrometry

3.3.2. TCPY EN ANDERE ORGANOFOSFAAT METABOLIETEN

TCPy werd gemeten door VITO-MANT. Daarnaast werden ook de andere organofosfaatmetaboliëten gemeten (overzicht zie Tabel 51), namelijk:

- ✓ dimethylfosfaat (DMP);
- ✓ dimethylthiofosfaat (DMTP);
- ✓ dimethyldithiofosfaat (DMDTP);
- ✓ diethylfosfaat (DEP);
- ✓ diethylthiofosfaat (DETP);
- ✓ diethyldithiofosfaat (DEDTP).

Een analytische methode werd ontwikkeld voor de specifieke bepaling van de organofosfaatmetaboliëten in urine. De methode bestond uit een offline staal voorbereidingsstap, gevolgd door detectie door 'liquid chromatography-mass spectrometry' (LC-MS/MS).

In de eerste stap werd voor elk staal 2 mL urine verzuurd tot ongeveer pH 4,5 door toevoeging van 0,1M NaAc buffer. Vervolgens werd het staal geladen in een OASIS WAX (150 mg/6 cc) extractie kolom. Deze kolom werd voorbehandeld met 1 mL 5% NH₄OH in 1 mL methanol en 2 mL verdunde aquatische buffer. Na het laden van het staal, werd de kolom gewassen met 2 mL 30% methanol. Vervolgens werd geëluëerd met 2 mL 5% NH₄OH in methanol. Dit extract werd met stikstof geëvaporeerd om te drogen en werd gereconstitueerd tot een finaal volume van 500 µL water/methanol. De kalibratiestandaarden werden aangemaakt in water en werden opgewerkt zoals de urinestalen.

Voor de detectie werd een LC-MS systeem gebruikt (Waters XEVO TQS). De stalen werden geïnjecteerd op een 150x3 mm ID kolom (1,7µm), het injectievolume was 10 µL. Een gradiënt elutie werd uitgevoerd door het gebruik van mobiele fase A (2 mM ammoniumformaat) en mobiele fase B (methanol) aan een debiet van 0,4 mL/minuut bij een temperatuur van 40°C. De organofosfaatmetaboliëten werden gedetecteerd in 'multiple reaction monitoring mode' (MRM). Kwantificatie gebeurde met behulp van Quanlynx software (Waters).

Ter validatie werd een controle uitgevoerd op de lineariteit. De terugvinding voor elke verbinding a.h.v. geaddeerd water en geaddeerd urinemonster werd bepaald bij rechtstreekse meting en na vaste fase extractie met Oasis WAX. Verder werd de gemiddelde terugvinding voor elke verbinding a.h.v. addities aan verschillende urinemonsters bepaald (de gerapporteerde gehalten zijn gecorrigeerd voor deze terugvindingen). De reproduceerbaarheid werd gecontroleerd o.b.v. duplobepalingen van verschillende monsters. Voor DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP en DMDTP bestaat de mogelijkheid om deel te nemen aan ringtesten (EQUAS). In het Steunpunt Milieu & Gezondheid werd hier dan ook aan deelgenomen door VITO-MANT.

De detectie- en kwantificatielimieten, gebaseerd op signaal/ruis-verhouding, worden weergegeven in Tabel 51.

Tabel 51: Overzicht laboratoriumanalyse TCPy en organofosfaat metaboliëten.

Biomarker	Lab	Methode	LOD	LOQ
TCPy	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DMP	VITO-MANT	LC-MS	1 µg/L	2 µg/L
DMTP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DMDTP	VITO-MANT	LC-MS	1 µg/L	2 µg/L
DEP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DETP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L
DEDTP	VITO-MANT	LC-MS	0,5 µg/L	1 µg/L

Afkortingen: LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; LC-MS liquid chromatography-mass spectrometry

3.3.3. ETU

Deze biomerker voor mancozeb werd gemeten door Richrom (overzicht zie Tabel 52). De analytische methode start met een derivatisatie met pentafluorobenzyl bromide, gevolgd door een extractie volgens de procedure beschreven door Lindh et al. (2008). ETU werd geanalyseerd door middel van LC-QQQ-MS op 3 verschillende MRM transities (463-282, 463-263, 463-181). Hiervoor werd gebruik gemaakt van een 150x2,1 mm Zorbax SBC18 kolom (1,8 µm). Er werd gewerkt aan een debiet van 0,2 mL/minuut aan een temperatuur van 30°C, mobiele fase A was 1% azijnzuur in H₂O, mobiele fase B was 1% azijnzuur in MeOH.

De transities 463-263 en 463-282 vertoonden de hoogste selectiviteit en werden bijgevolg gebruikt voor de kwantificatie. Het kwantificeren van ETU in de urinestalen gebeurde door middel van standaardadditie (urinestaal + 3 gespikete niveaus).

Ter validatie werd de lineariteit van de methode getest. Uit de regressie bleek dat de lineariteit uitstekend was voor de transities gebruikt voor de kwantificatie ($R^2 > 0,99$). De herhaalbaarheid van de injectie werd getest op standaard 0,1 ppb ETU in water. De RSD (relative standard deviation) bedroeg 3,0% en 4,9% voor de transities 463-263 en 463-282 respectievelijk. De stalen met hoge concentraties aan ETU werden geconfirmeerd d.m.v. duplo analyses. Voor de meting van ETU is geen EQUAS ringtest beschikbaar.

De LC-MS methode liet toe om ETU te bepalen in urine tot een LOD van 0,1 µg/L en een LOQ van 0,5 µg/L.

Tabel 52: Overzicht laboratoriumanalyse ETU.

Biomerker	Lab	Methode	LOD	LOQ
ETU	Richrom	LC-MS	0,1 µg/L	0,5 µg/L

Afkortingen: LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; ETU ethyleenthioureum; LC-MS liquid chromatography-mass spectrometry

3.3.4. 3,4-DCA

De linuron-biomerker 3,4-DCA werd gemeten door Richrom (overzicht zie Tabel 53). De eerste stap in de analytische methode was de toevoeging van de inwendige standaard 3,4-DCA-d₂ aan 1 mL urine en 1 mL 10N NaOH. De stalen werden gedurende 2 uur bij 100°C gehydrolyseerd. Vervolgens werd 3,4-DCA en de inwendige standaard met tolueen geëxtraheerd. De organische fase werd afgezonderd en er werd PFPA toegevoegd voor derivatisatie. De overmaat reagens werd verwijderd d.m.v. een fosfaatbuffer. De tolueen fase werd ingedampt en vervolgens heropgelost in 100 µL acetonitrile.

Deze oplossing werd geanalyseerd d.m.v. LC-MS/MS. Er werd 5 µL geïnjecteerd op een 150x2,1 mm Zorbax Eclipse plus C18 kolom (1,8 µm). De mobiele fase A bestond uit 0,5% azijnzuur in H₂O, mobiele fase B was MeOH, er werd geëluëerd aan een debiet van 0,2 mL/minuut bij een temperatuur van 50°C.

Het kwantificeren van 3,4-DCA in de urinestalen gebeurde a.h.v. een calibratiecurve voor een concentratiebereik van 0,1 µg/L tot 20 µg/L. De regressie in dit concentratiebereik bedroeg 0,999. Aan alle standaardoplossingen en stalen werd dezelfde hoeveelheid 3,4-DCA-d₂ toegevoegd.

Ter validatie werd de herhaalbaarheid van de injectie getest op standaard 1 µg/L 3,4-DCA in water. De RSD (relative standard deviation) bedroeg 4,8% (n=3). Tevens werd een staal gespiked met 0,5 µg/L 3,4-DCA. De bekomen concentratie voor het gespikete staal bedroeg 1,02 µg/L met een recovery van 120%. Voor de meting van 3,4-DCA was geen EQUAS ringtest beschikbaar.

De LOD en LOQ werden bepaald op basis van het staal met de laagste concentratie aan 3,4-DCA. Gebaseerd op de signaal/ruis-verhouding werd de LOQ vastgelegd op 0,1 µg/L en de LOD op 0,025 µg/L.

Tabel 53: Overzicht laboratoriumanalyse 3,4-DCA.

Biomerker	Lab	Methode	LOD	LOQ
3,4-DCA	Richrom	GC-MS	0,025 µg/L	0,1 µg/L

Afkortingen: LOD detectielimiet; LOQ kwantificatielimiet; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline; GC-MS gass chromatography-mass spectrometry

3.4. STATISTISCHE ANALYSE

Voor iedere biomerker werd een beschrijvende statistiek gegeven voor de totale groep:

- ✓ aantal observaties;
- ✓ aantal metingen onder de detectielimiet;
- ✓ mediaan en percentielen

Indien relevant voor slechts 10 of 11 deelnemers wordt getracht de blootstelling in verband te brengen met persoonsgebonden kenmerken (bv. geslacht, BMI, ...), omgevingskenmerken (bv. wonen naast een veld, boomgaard, ...), en levensstijlfactoren (bv. roken, gebruik van bestrijdingsmiddelen, ...), om op die manier de determinanten van blootstelling in kaart te brengen.

Daarnaast kunnen de resultaten gekaderd worden ten opzichte van de nationale en internationale literatuur, zoals bv. het Steunpunt Milieu & Gezondheid, NHANES (Amerikaanse biomonitoring), GerES (Duitse biomonitoring).

HOOFDSTUK 4. RESULTATEN

4.1. REKRUTERING

In totaal werden 11 adolescenten gerekruteerd. Hiervan wonen er 9 in de fruitstreek in Limburg. Omdat er niet meer aanmeldingen waren uit de fruitstreek werd er aangevuld met 2 kinderen van VITO collega's die ook landelijk wonen, maar in de Antwerpse Kempen.

De staalname bij de groep uit Limburg vond plaats tussen 17 en 24 augustus 2012; de urinestalen van de adolescenten uit de Antwerpse Kempen gebeurde in juli 2012. Het moment van staalname is zeer belangrijk bij biomonitoring van bestrijdingsmiddelen. In lente en zomer worden bestrijdingsmiddelen gebruikt; daarnaast spelen ook de weersomstandigheden een rol, aangezien bij regenweer de bestrijdingsmiddelen kunnen wegspoelen van de gewassen. De staalname bij de groep jongeren uit Limburg werd voorafgegaan door warm, droog weer; terwijl de staalname bij de 2 andere jongeren plaatsvond bij eerder regenachtig weer.

4.2. BESCHRIJVING VAN DE ONDERZOEKSPOPULATIE

De voornaamste karakteristieken van de 11 deelnemers worden weergegeven in Tabel 54.

Tabel 54: Karakteristieken van de onderzoekspopulatie

Parameter	N (%)
Geslacht	
jongen	6 (55%)
meisje	5 (45%)
Leeftijd	
≤14,5 jaar	3 (27%)
14,5-15,5 jaar	4 (36%)
> 15 jaar	4 (36%)
BMI	
ondergewicht (<18,5 kg/m ²)	6 (55%)
normaal gewicht (18,5-25 kg/m ²)	5 (45%)
overgewicht (≥25 kg/m ²)	0
Algemene gezondheidstoestand	
zeer goed	9 (82%)
goed	2 (18%)
redelijk, slecht, zeer slecht	0 (0%)
Opleiding adolescent	
ASO	11 (100%)
TSO of lager	0 (0%)
Hoogste opleiding ouders	
universiteit	3 (27%)
hoger onderwijs buiten universiteit	6 (55%)
hoger secundair onderwijs	2 (18%)
lager secundair onderwijs of lager	0 (0%)

Parameter	N (%)
Afgelopen 3 dagen gerookt	
ja	0 (0%)
nee	11 (100%)
Wonen in de buurt van groententeelt	
ja, op minder dan 100m	2 (18%)
ja, tussen 100m en 500m	2 (18%)
ja, tussen 500m en 1000m	1 (9%)
ja, op meer dan 1000m	2 (18%)
nee	4 (36%)
Wonen in de buurt van fruitteelt	
ja, op minder dan 100m	7 (64%)
ja, tussen 100m en 500m	2 (18%)
ja, tussen 500m en 1000m	0 (0%)
ja, op meer dan 1000m	0 (0%)
nee	2 (18%)
Wonen in de buurt van een akker	
ja, op minder dan 100m	5 (45%)
ja, tussen 100m en 500m	2 (18%)
ja, tussen 500m en 1000m	3 (27%)
ja, op meer dan 1000m	1 (9%)
nee	0 (0%)
Wonen in de buurt van een grasveld	
ja, op minder dan 100m	6 (55%)
ja, tussen 100m en 500m	2 (18%)
ja, tussen 500m en 1000m	1 (9%)
ja, op meer dan 1000m	0 (0%)
nee	2 (18%)
Afgelopen dagen onrechtstreeks in contact geweest met bestrijdingsmiddelen	
ja	3 (27%)
nee	8 (73%)
Afgelopen dagen zelf bestrijdingsmiddelen gebruikt	
ja	0 (0%)
nee	11 (100%)
Afgelopen dagen iemand in uw gezin bestrijdingsmiddelen buitenshuis gebruikt	
ja	9 (82%)
nee	2 (18%)
Afgelopen dagen iemand in uw gezin anti-muggenmelk gebruikt	
ja	2 (18%)
nee	9 (82%)
Afgelopen dagen iemand in uw gezin een andere insectenverdelger gebruikt	
ja	5 (45%)
nee	6 (55%)
Worden er sproeistoffen gebruikt in uw moestuin met groenten voor eigen consumptie	
ik heb geen moestuin met groenten	7 (64%)

Parameter	N (%)
nee, geen sproeistoffen gebruikt	4 (36%)
ja, sproeistoffen gebruikt	0 (0%)
Worden er sproeistoffen gebruikt in uw moestuin met fruit voor eigen consumptie	
ik heb geen moestuin met fruit	3 (27%)
nee, geen sproeistoffen gebruikt	2 (18%)
ja, sproeistoffen gebruikt	6 (55%)

In de studie werden 6 jongens en 5 meisjes opgenomen met een gemiddelde leeftijd van 15 jaar. Zes van de 11 deelnemers hadden een BMI onder de 18,5 kg/m², met een gemiddelde BMI van 18,7 kg/m². Alle adolescenten volgen ASO op school, en ook het merendeel van de ouders heeft een hogere opleiding genoten.

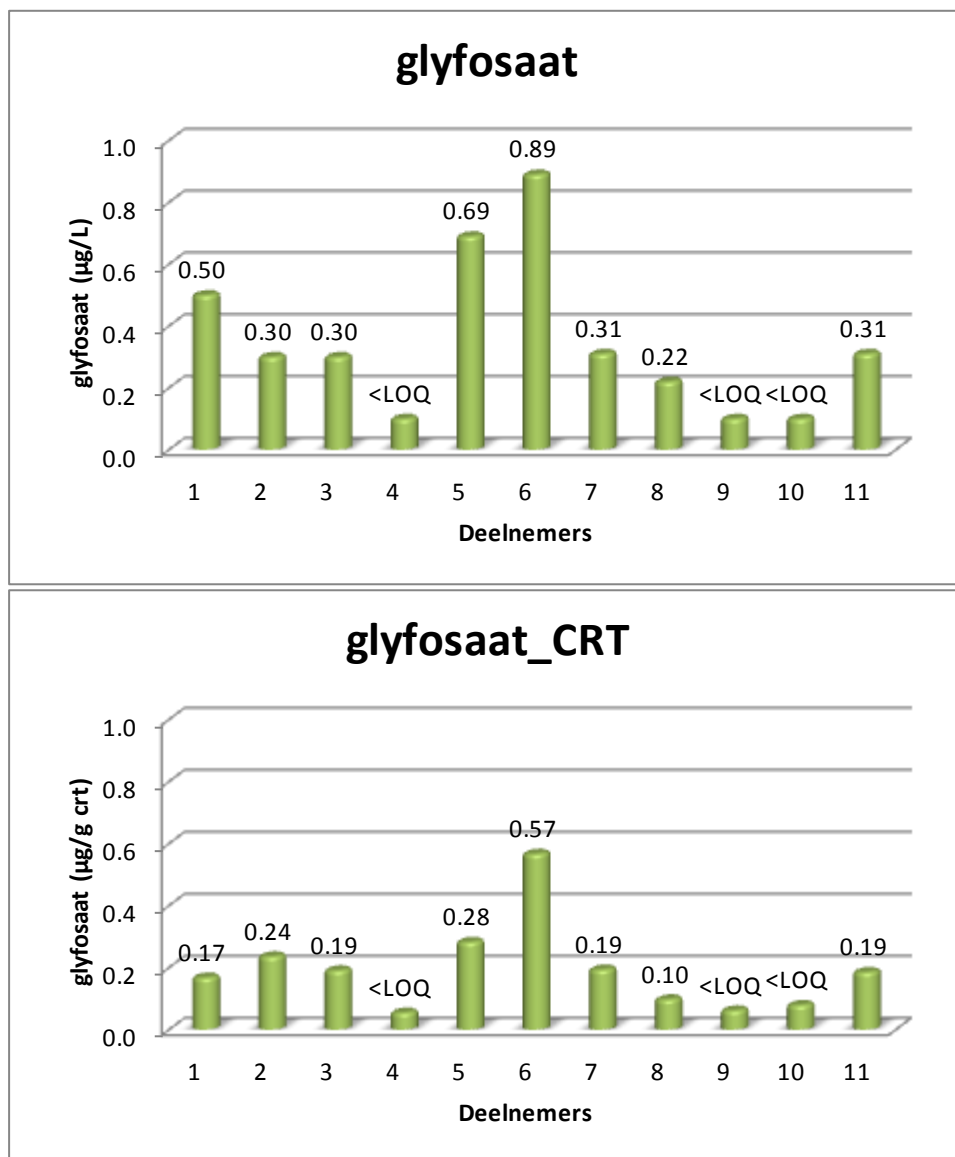
Wat betreft de woonplaats van de deelnemers, werden bewust alleen deelnemers gerekruteerd die landelijk wonen. Zeven deelnemers wonen in de buurt van een groententeelt, waarvan 4 op minder dan 500m. Negen adolescenten wonen op minder dan 500m van een fruitteelt, 7 op minder dan 50m van een akker en 8 op minder dan 500m van een grasveld. Hieruit blijkt dat al de deelnemers inderdaad zeer landelijk wonen en waarschijnlijk onrechtstreeks in contact komen met een aantal bestrijdingsmiddelen.

Geen enkele deelnemer gebruikte zelf bestrijdingsmiddelen de dagen voor de staalname, wel werd er bij 9 jongeren door een gezinslid buitenshuis een bestrijdingsmiddel gebruikt. Zes van de 11 deelnemers eten fruit uit de moestuin van het gezin waarop sproeistoffen gebruikt worden. In de gezinsomgeving van 3 deelnemers werd glyfosaat gebruikt 1 tot 2 weken voor de staalname, linuron werd toegepast binnen het gezin van 2 deelnemers 2 weken voor de staalname.

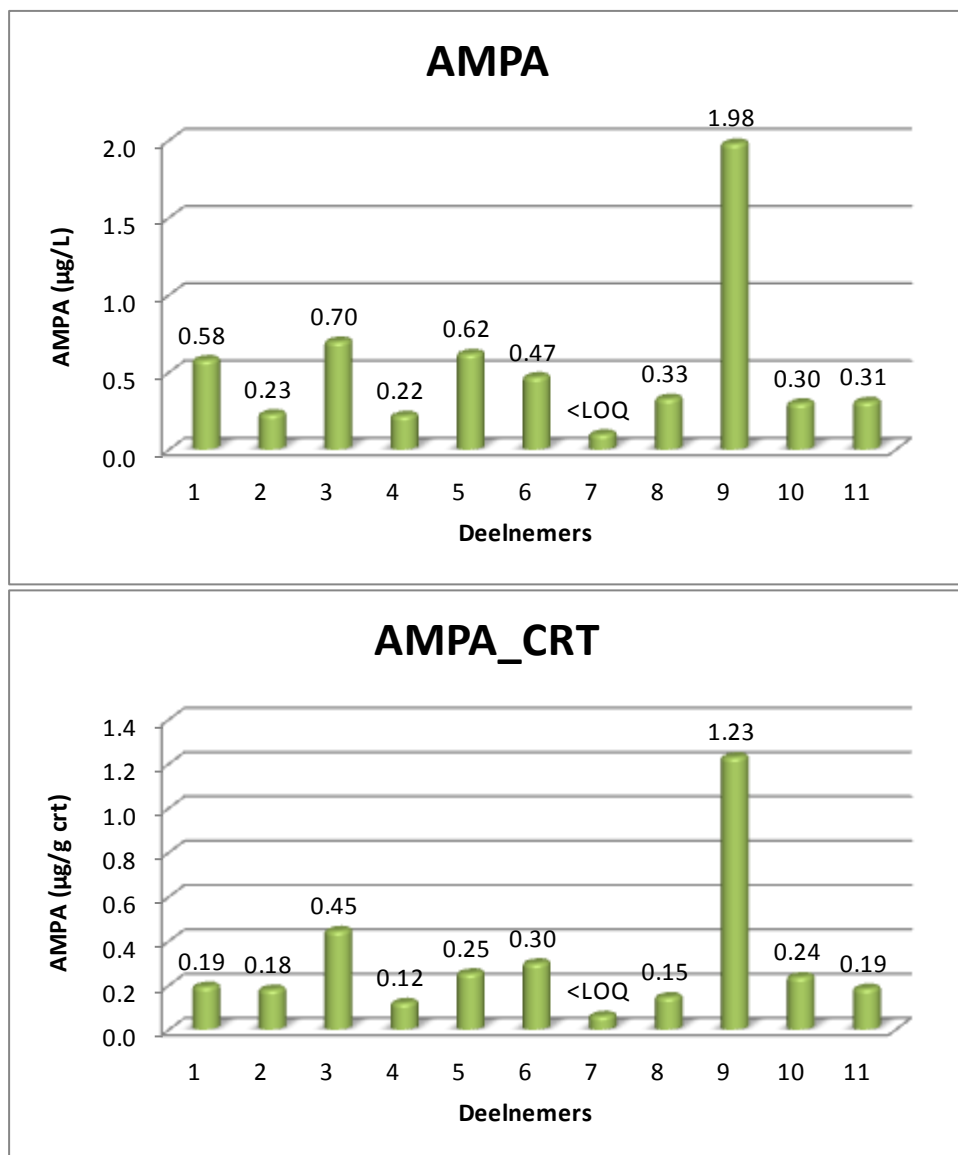
Als correctie voor de densiteit van de urine werd creatinine bepaald bij alle deelnemers. Het creatininegehalte schommelde tussen 126 mg/dL en 298 mg/dL, wat betekent dat alle waarden tussen 30 en 300 mg/dL lagen en dus voldeden aan de WHO norm voor geldige urinecollectie (WHO, 1996). Het soortelijk gewicht van de urinestalen varieerde tussen 1,014 en 1,032.

4.3. GLYFOSAAT

Glyfosaat en de urinaire metaboliet van glyfosaat, AMPA, werden gelijktijdig via GC-MS/MS gemeten in de urine van 11 deelnemers. Glyfosaat lag onder de kwantificatielimiet (LOQ) bij 3 van de 11 deelnemers; de waarde varieerde tussen <LOQ en 0,89 µg/L (Figuur 3). AMPA was niet kwantificeerbaar (<LOQ) bij 1 deelnemer; de minimum-maximum range was <LOQ – 1,98 µg/L (Figuur 4).

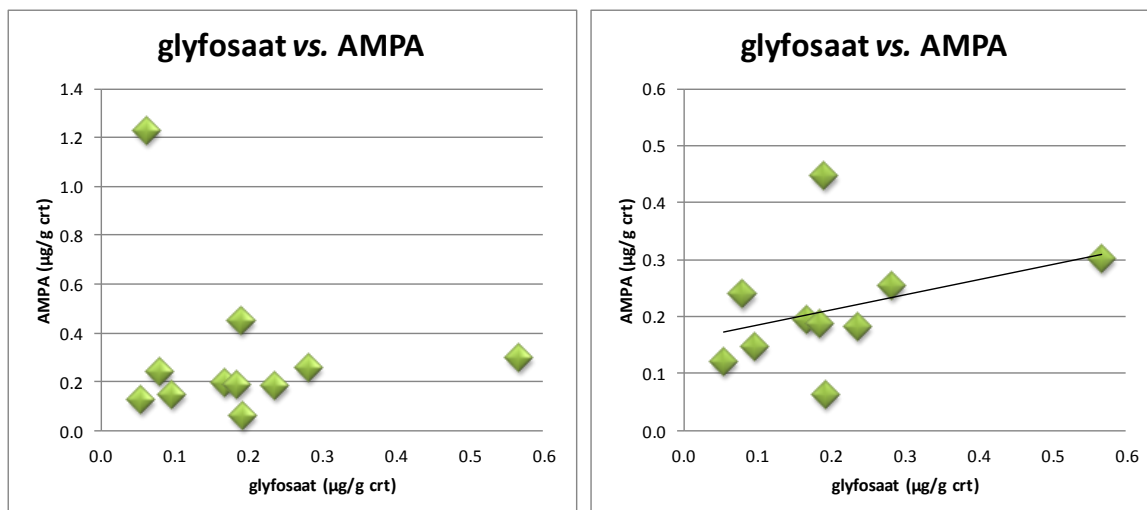


Figuur 3: Concentratie glyfosaat per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarden van drie deelnemers lagen onder de LOQ (0,2 µg/L) .



Figuur 4: Concentratie AMPA per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarden van drie deelnemers lagen onder de LOQ (0,2 µg/L) .

Op het eerste zicht was er geen duidelijke overeenkomst tussen glyfosaat in de urine en AMPA in de urine (Figuur 5, linker panel). Het individu met de hoogste waarde voor AMPA had een waarde onder de kwantificatielimiët voor glyfosaat. Indien deze outlier voor AMPA wordt weggelaten (Figuur 5, rechter panel), was er wel een vrij goede correlatie tussen beide metingen ($R^2=0,13$).



Figuur 5: Correlatie tussen glyfosaat in urine ($\mu\text{g/g}$ creatinine) en AMPA in urine ($\mu\text{g/g}$ creatinine). Links: alle 11 deelnemers; rechts: 10 deelnemers, na exclusie van 1 outlier voor AMPA

De beschrijvende statistiek voor glyfosaat en AMPA in de urine wordt gegeven in Tabel 55. De mediaan bedroeg $0,19 \mu\text{g/g}$ creatinine ($0,30 \mu\text{g/L}$) voor glyfosaat en $0,19 \mu\text{g/g}$ creatinine ($0,33 \mu\text{g/L}$) voor AMPA.

Tabel 55: Beschrijvende statistiek voor glyfosaat en AMPA.

biomarker	eenheid	N	%>LOQ*	P50 (P25-P75)	min-max
glyfosaat	$\mu\text{g/L}$	11	73%	0,30 (0,16 – 0,40)	<0,2-0,89
glyfosaat	$\mu\text{g/g crt}$	11	73%	0,19 (0,09 – 0,21)	<0,2-0,57
AMPA	$\mu\text{g/L}$	11	91%	0,33 (0,26 – 0,60)	<0,2-1,98
AMPA	$\mu\text{g/g crt}$	11	91%	0,19 (0,16 – 0,28)	<0,2-1,23

Afkortingen: crt creatinine; P percentiel; LOQ kwantificatielimiet; LOD detectielimiet

* LOQ = $0,2 \mu\text{g/L}$

In vergelijking met de gerapporteerde waarden in de literatuur (zie Tabel 18), liggen de gemeten waarden voor glyfosaat in urine in de huidige studie vrij laag. Twee studies bij landbouwers rapporteerden een geometrische gemiddelde van respectievelijk $1,9 \mu\text{g/L}$ en $3,2 \mu\text{g/L}$. In studies bij vrouwen en kinderen van landbouwers, of bij de algemene bevolking varieerde het geometrisch gemiddelde tussen $1,4 \mu\text{g/L}$ en $2,7 \mu\text{g/L}$ (met uitzondering van 1 studie waarbij 88% van de stalen van de kinderen en 96% van de stalen van de vrouwen onder de LOD lagen, maar de LOD was $1 \mu\text{g/L}$, dus vrij hoog). Globaal lagen de gemiddelde waarden in de literatuur dus ongeveer een factor 5 tot 10 hoger dan de mediaan in de huidige studie. Voor AMPA worden in de literatuur enkel waarden in serum gerapporteerd. Er werden geen referentiewaarden in urine gevonden in bevolkingsstudies.

Het Duitse laboratorium rapporteert bij de metingen die zij uitvoerden een referentie waarde op basis van een eigen studie bij 90 deelnemers (Study MedLab, 2012). Deze referentie waarde is de 95^e percentiel van de eigen studie en bedraagt $0,8 \mu\text{g/L}$ voor glyfosaat en $0,5 \mu\text{g/L}$ voor AMPA. In de huidige Vlaamse studie heeft 1 deelnemer (9%) een waarde boven de referentiewaarde van $0,8 \mu\text{g/L}$ voor glyfosaat en hebben 4 deelnemers (36%) een meting boven de referentiewaarde van $0,5 \mu\text{g/L}$ voor AMPA.

Op basis van de vragenlijst was geen duidelijke verklaring te vinden voor de hoge waarde van AMPA in de urine van één deelnemer. Deze persoon gaf niet aan dat zij zelf of één van de gezinsleden

glyfosaat gebruikt had. Wel woonde deze persoon dicht bij grasland (<100m), bij akkers (<100m) en dicht in de buurt van fruitteelt (<100m).

Geen van de deelnemers had zelf herbiciden gebruikt in de periode die voorafging aan de urinecollectie. Bij drie deelnemers was er echter wel buitenshuis glyfosaat gebruikt door andere gezinsleden. De niveau's in de urine waren echter vergelijkbaar met de andere deelnemers. Bij de drie jongeren waarbij buitenshuis glyfosaat gebruikt was, bedroeg het geometrische gemiddelde 0,13 µg/g creatinine tegenover 0,16 µg/g creatinine bij de acht andere jongeren. Voor AMPA waren de respectievelijke cijfers 0,16 en 0,25 µg/g creatinine. De periode tussen de urinecollectie en het gebruik van glyfosaat bedroeg 7 dagen bij 1 persoon, en 14 dagen bij de 2 andere jongeren.

Er werden geen verschillen gedetecteerd tussen jongens/meisjes, volgens BMI klasse, volgens seizoen, of volgens leeftijd, maar voorzichtigheid in de interpretatie is nodig aangezien de groep zeer klein is.

Conclusie glyfosaat en AMPA:

Naast glyfosaat werd ook een afbraakproduct van glyfosaat, nl. AMPA, gemeten in de urine van 11 deelnemers.

Glyfosaat in de urine lag bij 8 van de 11 deelnemers (73%) boven de LOQ; AMPA was detecteerbaar bij 10 van de 11 deelnemers (91%). Indien één outlier voor AMPA wordt weggelaten uit de analyse, was er een vrij goede correlatie tussen de concentratie van glyfosaat en AMPA in de urine.

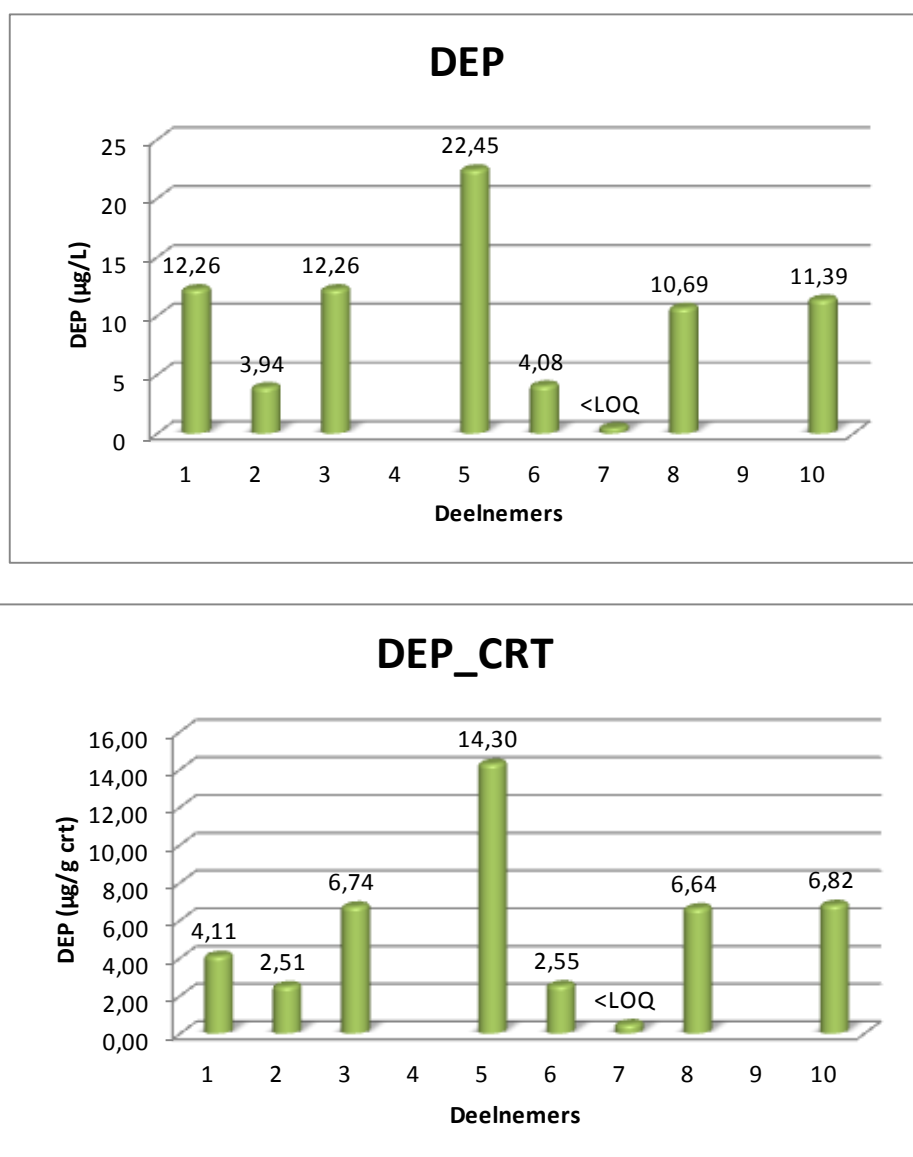
De niveau's van glyfosaat in urine die werden gemeten in deze studie zijn laag in vergelijking met de literatuur, maar het aantal studies is beperkt. Voor AMPA werden geen referentiewaarden teruggevonden in de literatuur.

De waarden van glyfosaat en AMPA in de urine konden niet in verband gebracht worden met gebruik van glyfosaat in de buurt van de woning in de voorbije één tot twee weken.

4.4. ORGANOFOSFAAT-METABOLIETEN

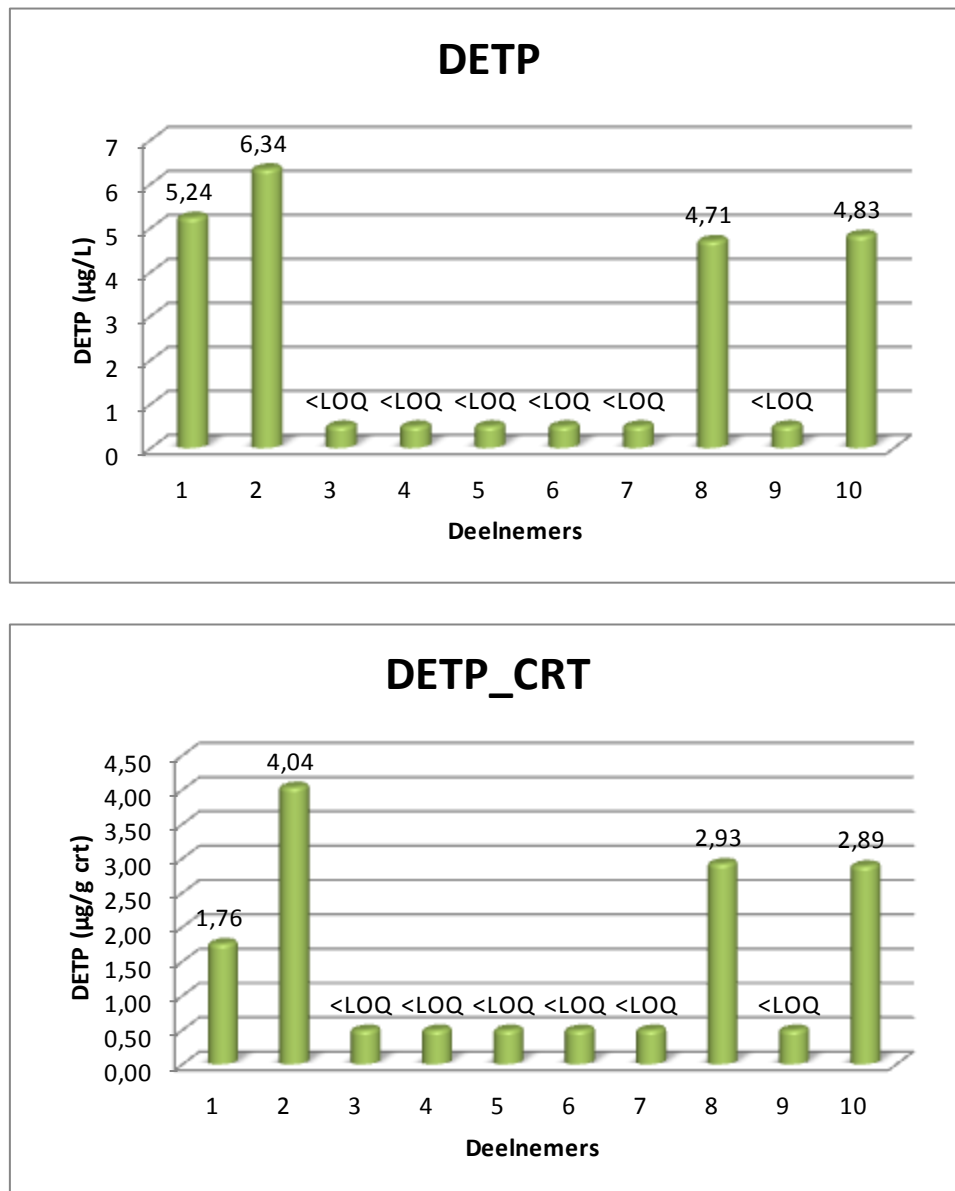
De specifieke chloorpyrifos metaboliet TCPy en de andere niet-specifieke organofosfaatmetabolieten werden gemeten in de urine van 10 deelnemers. Voor DEDTP konden geen resultaten bekomen worden wegens interferentie (storing op het chromatogram, waarschijnlijk door de urinematrix), ook voor DEP trad er interferentie op voor 2 stalen, waardoor er slechts resultaten van 8 deelnemers beschikbaar zijn.

De TCPy metaboliet van chloorpyrifos en DMP konden voor geen enkele deelnemer gedetecteerd worden, alle waarden lagen onder de LOQ van respectievelijk 1 µg/L (LOD 0,5 µg/L) en 2 µg/L (LOD 1 µg/L). Voor DMDTP lagen alle waarden onder de LOQ van 2 µg/L (LOD 1 µg/L), uitgezonderd 1 deelnemer waarvoor een hoge concentratie van 16,95 µg/g creatinine (41,35 µg/L) opgetekend werd. DEP werd bij 7 deelnemers gedetecteerd, 1 waarde bevond zich onder de LOQ van 1 µg/L (LOD 0,5 µg/L). De gemeten concentraties varieerden tussen 2,51 µg/g creatinine (3,94 µg/L) en 14,30 µg/g creatinine (22,45 µg/L) (Figuur 6).



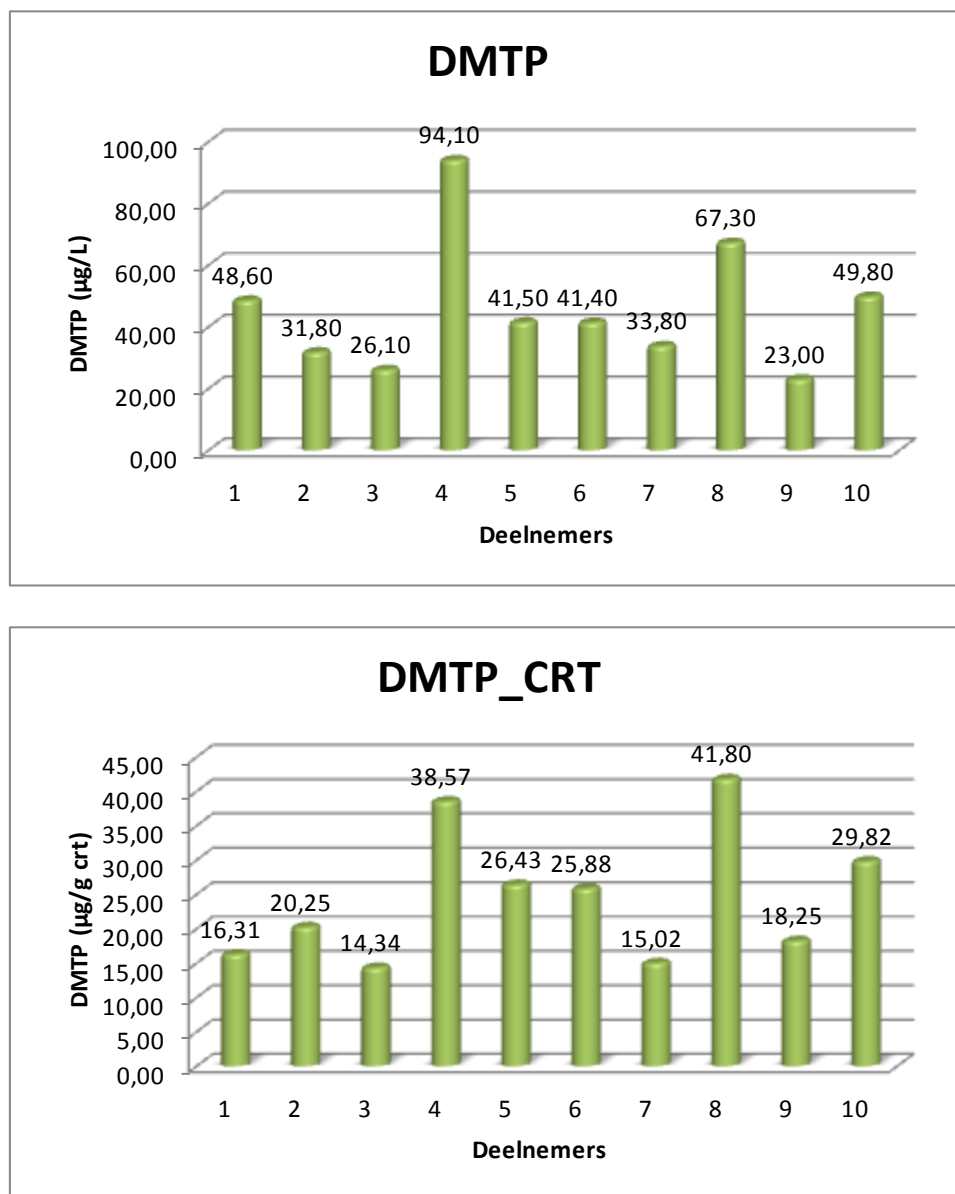
Figuur 6: Concentratie DEP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarde voor één deelnemer lag onder de LOQ (1 µg/L) .

DETP kon slecht bij 4 adolescenten gedetecteerd worden, de gehalten van de detecteerbare resultaten schommelden rond 5 µg/L (Figuur 7).



Figuur 7: Concentratie DETP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder). De waarde voor 6 deelnemers lag onder de LOQ (1 µg/L).

DMTP werd gedetecteerd bij alle 10 jongeren. De gehalten lagen een stuk hoger dan de gehalten van de andere metabolieten en bevonden zich tussen 14,34 $\mu\text{g/g}$ creatinine (23 $\mu\text{g/L}$) en 41,80 $\mu\text{g/g}$ creatinine (94,4 $\mu\text{g/L}$) (Figuur 8).



Figuur 8: Concentratie DMTP per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder).

In Tabel 56 wordt een overzicht gegeven van de beschrijvende statistiek van de organofosfaatmetabolieten. De mediaan voor DETP lag onder de LOQ van 1 µg/L, de medianen voor DEP en DMTP waren respectievelijk 5,38 µg/g creatinine (11,04 µg/L) en 23,06 µg/g creatinine (41,45 µg/L). Voor de andere metabolieten kon geen mediaan getoond worden wegens interferentie (DEDTP) of het grote aantal waarden onder de LOQ (TCPy 1 µg/L, DMP 2 µg/L en DMDTP 2 µg/L).

Tabel 56: Beschrijvende statistiek voor organofosfaat metabolieten.

biomarker	eenheid	N	%>LOD*	%>LOQ*	P50 (P25-P75)	min-max
TCPy	µg/L	10	0%	0%	/	/
DEP	µg/L	8**	88%**	88%**	11,04 (4,01-12,26)	<1-22,45
DEP	µg/g crt	8**	88%**	88%**	5,38 (2,53-6,78)	<1-14,30
DETP	µg/L	10	40%	40%	<1 (<1-4,83)	<1-6,34
DETP	µg/g crt	10	40%	40%	<1 (<1-2,89)	<1-4,04
DEDTP	µg/L	0***	/***	/***	/	/
DMP	µg/L	10	0%	0%	/	/
DMTP	µg/L	10	100%	100%	41,45 (31,80-49,80)	23,0-94,1
DMTP	µg/g crt	10	100%	100%	23,06 (16,31-29,82)	14,34-41,80
DMDTP	µg/L	10	10%	10%	/	/

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat crt creatinine GM geometrisch gemiddelde BI betrouwbaarheidsinterval P percentiel LOQ kwantificatielimiet LOD detectielimiet

*LOD TCPy = 0,5 µg/L, LOQ TCPy = 1 µg/L; LOD DEP = 0,5 µg/L, LOQ DEP = 1 µg/L; LOD DETP = 0,5 µg/L, LOQ DETP = 1 µg/L; LOD DEDTP = 0,5 µg/L, LOQ DEDTP = 1 µg/L; LOD DMP = 1 µg/L, LOQ DMP = 2 µg/L; LOD DMTP = 0,5 µg/L, LOQ DMTP = 1 µg/L; LOD DMDTP = 1 µg/L, LOQ DMDTP = 2 µg/L.

** voor 2 stalen was er interferentie, dus deze stalen werden niet opgenomen in de beschrijvende statistiek

*** voor alle stalen was er interferentie

Een overzicht van de metabolietconcentraties per deelnemer wordt gegeven in Tabel 57. DMDTP werd slechts bij één deelnemer (4) gedetecteerd, in hoge concentratie; ook DMTP was sterk aanwezig in de urine van deze deelnemer. De hoogste DMTP concentratie werd gevonden voor deelnemer 8, bij deze persoon lag ook DEP en DETP boven de detectielimiet. Uit de vragenlijstgegevens bleek dat deelnemers 4 en 8 die relatief hoge gehalten aan metabolieten in de urine hadden, ook insectenverdelgers gebruikt hadden in de periode voor de staalname. Voor deelnemer 7 lagen alle metabolieten onder de LOQ, uitgezonderd DMTP dat bij alle deelnemers gedetecteerd kon worden, maar ook voor deze metaboliet werd bij deze deelnemer een relatief lage waarde opgetekend t.o.v. de andere deelnemers.

In de vragenlijst wordt geïnformeerd naar het gebruik van insectenverdelgers, ... en wordt er gevraagd naar de product/merknaam van het gebruikte product met de bedoeling de werkzame stof te kunnen achterhalen. Dit was meestal mogelijk, maar soms werd bv. vliegenstrip ingevuld of de naam van een firma met meerdere producten, waardoor het niet mogelijk was om de werkzame stof op te zoeken. Dit betekent dat we bij een aantal deelnemers wel weten dat ze een insectenverdelger gebruikt hebben, maar dat we geen zekerheid hebben over de werkzame stof.

Tabel 57: Overzicht concentraties organofosfaatmetabolieten per deelnemer (in µg/g creatinine)

Deelnemer	TCPy	DEP	DETP	DMP	DMTP	DEDTP
1	<LOQ	4,11	1,76	<LOQ	16,31	<LOQ
2	<LOQ	2,51	4,04	<LOQ	20,25	<LOQ
3	<LOQ	6,74	<LOQ	<LOQ	14,34	<LOQ
4	<LOQ	interferentie	<LOQ	<LOQ	38,57	16,95
5	<LOQ	14,30	<LOQ	<LOQ	26,43	<LOQ
6	<LOQ	2,55	<LOQ	<LOQ	25,88	<LOQ
7	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	15,02	<LOQ
8	<LOQ	6,64	2,93	<LOQ	41,80	<LOQ
9	<LOQ	interferentie	<LOQ	<LOQ	18,25	<LOQ
10	<LOQ	6,82	2,89	<LOQ	29,82	<LOQ

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; LOQ kwantificatielimiet

Er zijn momenteel geen Vlaamse referentiewaarden voor TCPy beschikbaar. Wel werd de chloorpyrifos metaboliet gemeten in een aantal Amerikaanse studies (zie Tabel 33). In de Amerikaanse biomonitoringcampagne NHANES bedroeg het geometrisch gemiddelde voor TCPy 1,60 µg/g creatinine in 1999-2000 en 2,09 µg/g crt in 2001-2002. In tegenstelling hiermee kon TCPy in huidige studie bij geen enkele deelnemer gedetecteerd worden. De LOD in de NHANES studie bedroeg 0,4 µg/L t.o.v. een LOD van 0,5 µg/L hier (LOQ van 1 µg/L), wat het verschil niet kan verklaren.

In het 2e Steunpunt Milieu & Gezondheid werden de niet-specifieke organofosfaat metabolieten gemeten via GC-MS. Deze meting bleek soms problematisch te zijn wegens het niet terugvinden van de interne standaard. Hierdoor werden een aantal meetreeksen als onbetrouwbaar beschouwd en uit de dataset verwijderd. In de huidige studie werden de organofosfaatmetabolieten gemeten via LC-MS door hetzelfde laboratorium, maar ook met deze methode konden een aantal metingen niet gerapporteerd worden wegens interferentie. Een vergelijking van de analyses wordt gegeven in Tabel 58.

Tabel 58: Vergelijking analyses niet-specifieke organofosfaatmetabolieten met het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid.

Biomarker	deze studie				2 ^e Steunpunt Milieu & Gezondheid			
	LOD	LOQ	% > limiet	mediaan µg/g crt	rappor-teergrens	% > limiet	mediaan µg/g crt	geom. gemiddelde µg/g crt
DEP	0,5 µg/L	1 µg/L	88	5,38	2 µg/L	54,7	1,64	1,90
DETP	0,5 µg/L	1 µg/L	40	< 1	1 µg/L	23,3	< 1	/
DEDTP	0,5 µg/L	1 µg/L	/	/	2 µg/L	5,3	< 2	/
DMP	1 µg/L	2 µg/L	0	/	3 µg/L	67,5	5,30	3,80
DMTP	0,5 µg/L	1 µg/L	100	23,06	1 µg/L	94,6	6,10	4,40
DMDTP	1 µg/L	2 µg/L	10	/	1 µg/L	34,4	< 1	/

Afkortingen: DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; crt creatinine

In Tabel 59 wordt een overzicht gegeven van de organofosfaatpesticiden en de overeenkomstige niet-specifieke metabolieten. De voornaamste metaboliet(en) werd(en) telkens vetgedrukt aangeduid. Elk pesticide metaboliseert ofwel tot één of meerdere 'ethyl' metabolieten ofwel tot één of meerdere 'methyl' metabolieten. Als er geen specifieke bijkomende informatie beschikbaar is over het gebruik van organofosfaatpesticiden kan de blootstelling niet teruggebracht worden tot één specifiek bestrijdingsmiddel. In deze studie zien we dat de adolescenten niet specifiek blootgesteld werden aan chloorpyrifos, maar de relatief hoge concentraties aan DMTP in de urine van de deelnemers duidt wel op gebruik van andere organofosfaatpesticiden die als voorname metaboliet DMTP hebben, zoals azinphos-methyl, dimethoat of parathion-methyl. DEP, wat ook vaak gedetecteerd werd, kan dan weer afkomstig zijn van een aantal andere organofosfaatpesticiden, zoals chlofenvinphos, diazinon, disulfoton, quinalfos of terbufos, en is ook een metaboliet van chloorpyrifos.

Tabel 59: Overzicht organofosfaatmetabolieten

pesticide	metabolieten			
Azinphos-methyl	DMP	DMTP	DMDTP	BTA
Chlofenvinphos	DEP	DETP		
Chloorpyrifos	DEP	DETP		TCPy
Demeton-S-methyl	DMP	DMTP	(DMDTP)	
Diazinon	DEP	DETP		IMPY
Dichloorvos	DMP			
Dimethoate	DMP	DMTP	DMDTP	
Disulfoton	DEP	DETP	DEDTP	
Fenthion	DMTP	(DMP)	(DMDTP)	
Heptenophos	DMP	(DMTP)		
Malathion	DMP	DMTP	DMDTP	MMA MDA
Mevinphos	DMP	(DMTP)		
Parathion	(DEP)	DETP	(DEDTP)	
Parathion-methyl	DMP	DMTP	(DMDTP)	PNP
Pirimiphos-methyl	DMTP	(DMP)	(DMDTP)	DEAMPY
Quinalfos	DEP	DETP	(DEDTP)	
Terbufos	DEP	DETP	DEDTP	
Tolclofos-methyl	DMTP	(DMP)	(DMDTP)	

Afkortingen: DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; BTA 1,2,3-benzotriazin-4-one; TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol; IMPY 2-isopropyl-4-methyl-6-hydroxypyrimidine; MMA malathion monocarboxylzuur; MDA malathion dicarboxylzuur; PNP 4-nitrofenol; DEAMPY 2-diethylamino-6-methyl pyrimidin-4-ol

Bron: ECB, fact sheet Steunpunt Milieu & Gezondheid; Olsson et al. 2003

Mogelijk kan met de analyse van een grotere hoeveelheid urine (bv. 5 mL i.p.v. 2 mL) een iets lagere LOD bekomen worden voor alle organofosfaatmetabolieten, maar enkel op voorwaarde dat het achtergrondsignaal niet toeneemt. Met de GC-MS methode zouden ook de LOD/LOQ's lager zijn dan met de LC-MS methode die hier gebruikt werd, maar met GC-MS is de bijdrage van de blanco groter, waardoor de uiteindelijke rapporteergrenzen stijgen. Praktisch betekent dit dat in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid met GC-MS de LOQ's lager waren dan de LOQ's in huidige studie, maar door de procedureblanco mee in rekening te brengen lagen de rapporteergrenzen in dezelfde grootte orde als de LOQ's in de huidige studie. Door de procedureblanco in rekening te brengen zouden in principe

de resultaten met beide methodes vergelijkbaar moeten zijn, en niet verantwoordelijk voor de hogere waarden voor een aantal metabolieten in deze studie.

Een voordeel van GC-MS is dat er minder storing is van de matrix, waardoor DEDTP wel zonder problemen bepaald zou kunnen worden, wat in huidige studie met LC-MS niet gelukt is. Met de GC-MS methode bleek er in het Steunpunt dan weer een probleem te zijn voor sommige stalen om de interne standaard terug te vinden, waardoor voor een aantal deelnemers de resultaten niet betrouwbaar gerapporteerd konden worden.

Een nadeel van de GC-MS methode is dat deze een derivatiseringsstap vereist wat de procedure omslachtiger maakt. Dit betekent ook dat er 2 methoden ingezet moeten worden voor de bepaling van de niet-specifieke organofosfaatmetabolieten en TCPy, waarvoor respectievelijk GC-MS en LC-MS gebruikt worden. Twee methodes uitvoeren zal meer tijd kosten en bijna een verdubbeling van de kostprijs met zich meebrengen.

Voor analyse van enkel de niet-specifieke organofosfaatmetabolieten gaat de voorkeur naar de GC-MS methode, omdat er minder storing is van de matrix en lagere LOD's mogelijk zijn, maar wel mits goede beheersing van de procedureblanco. Indien dit opgenomen wordt in toekomstige biomonitoringcampagnes wordt de methode geoptimaliseerd om tot een zo laag mogelijke detectielimiet te komen, en wordt opnieuw deelgenomen aan een internationale ringtest. Indien ook TCPy bepaald moet worden kan overwogen worden om toch voor LC-MS te kiezen, zodat alle metabolieten in eenzelfde methode geanalyseerd kunnen worden om de kostprijs te drukken.

In het Steunpunt Milieu & Gezondheid lagen bij de jongeren 54,7% van de waarden voor DEP boven de rapporteergrens (LOQ) van 2 µg/L tegenover 88% in deze studie boven de LOQ van 1 µg/L. DMTP kon in deze studie bij alle deelnemers gedetecteerd worden tegenover 94,6% in het Steunpunt bij een rapporteergrens van 1 µg/L voor beide studies. DMP werd bij geen enkele jongere gedetecteerd, terwijl deze metaboliet in het Steunpunt wel bij 67,5% van de jongeren boven de rapporteergrens van 3 µg/L lag (hier LOQ van 2 µg/L). DMDTP kon in het Steunpunt Milieu & Gezondheid bij 34,4% van de jongeren gedetecteerd worden (rapporteergrens van 1 µg/L), in huidige studie werd deze metaboliet slechts bij 1 adolescent gedetecteerd, maar lag de LOQ van 2 µg/L zelfs hoger dan in het 2^e Steunpunt. DETP en DEDTP werden in het Steunpunt slechts bij 23,3% en 5,3% van de adolescenten boven de rapporteergrenzen (1 µg/L en 2 µg/L respectievelijk) teruggevonden. DETP werd in deze studie bij 4 van de 10 deelnemers gedetecteerd (LOQ 1 µg/L), en DEDTP kon niet gemeten worden wegens interferentie. In het Steunpunt Milieu & Gezondheid werden geen specifieke organofosfaatmetabolieten geanalyseerd.

Algemeen zien we dat de metabolieten die hier het meest gedetecteerd worden ook in de Vlaamse humane biomonitoringcampagne het meest opgepikt worden. De rapporteergrenzen (LOQ's) liggen voor beide studies in dezelfde grootte orde. De geometrisch gemiddelden bedroegen in het Steunpunt Milieu & Gezondheid 1,9 µg/g crt voor DEP; 3,8 µg/g crt voor DMP; en 4,4 µg/g crt voor DMTP. De mediaan gehalten in huidige studie liggen toch beduidend hoger, vooral wat betreft DMTP.

De organofosfaatmetabolieten werden in een aantal internationale studies geanalyseerd, o.a. ook in de Amerikaanse en Duitse biomonitoringcampagnes NHANES en GerES (overzicht in Tabel 39).

In NHANES wordt als geometrisch gemiddelde meestal '<LOD' gerapporteerd voor DEP, DETP, DEDTP, DMP en DMDTP. De DMTP waarden bij de jongeren tussen 12 en 19 jaar waren in NHANES respectievelijk 1,71 µg/g crt, <LOD, 1,66 µg/g crt en 4,35 µg/g crt voor de verschillende campagnes gevoerd in 1999-2000, 2001-2002, 2003-2004 en 2007-2008. Gelijkaardig als in deze studie wordt DMTP het meest gedetecteerd, maar de gehalten voor DMTP liggen in onze studie veel hoger. DEP kon hier ook gedetecteerd worden bij het merendeel van de deelnemers, in tegenstelling tot de NHANES studie. De detectielimieten in de NHANES studie (zie Tabel 60) liggen algemeen bekeken wat lager dan deze in huidige studie en de Vlaamse biomonitoringcampagne, en zijn dus niet verantwoordelijk voor de lagere gehalten aan organofosfaatmetabolieten in de Amerikaanse studie in vergelijking met Vlaanderen. De gehalten in de Amerikaanse studie liggen het laagst, dit is mogelijks

te wijten aan de 'Food Quality Act' van 1996 die het gebruik van organofosfaatpesticiden voor huishoudelijk gebruik verbiedt. Geregistreerd gebruik voor landbouwtoepassingen is nog wel toegestaan (Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011: resultatenrapport deel referentiebiomonitoring (2010)).

Tabel 60: LOD waarden van de NHANES studie in vergelijking met huidige studie uitgedrukt in µg/L

	LOD DEP	LOD DETP	LOD DEDTP	LOD DMP	LOD DMTP	LOD DMDTP	LOD TCPy*
1999-2000	0,20	0,09	0,05	0,58	0,18	0,08	0,40
2001-2002	0,20	0,10	0,39	0,50	0,40	0,10	0,40
2003-2004	0,10	0,20	0,10	0,50	0,50	0,10	/
2007-2008	0,37	0,56	0,39	0,47	0,55	0,51	/
huidige studie	0,50	0,50	0,50	1,00	0,50	1,00	0,50

bron: rapport NHANES 2012: fourth national exposure report, updated tables

* bron: rapport NHANES 2009: fourth national exposure report

In de Duitse biomonitoringsstudie GerES IV waren de geometrisch gemiddelden voor de 6 metabolieten 2,61 µg/g crt voor DEP, 0,88 µg/g crt voor DETP, < LOD voor DEDTP, 10,7 µg/g crt voor DMP, 6,51 µg/g crt voor DMTP en 0,65 µg/g crt voor DMDTP. De LOQ voor DMP was 5 µg/l, voor de 5 andere metabolieten bedroeg de LOQ 1 µg/L (Becker et al. 2005). De metabolieten waarvoor in GerES de hoogste concentraties opgetekend werden komen overeen met deze studie, maar de mediaanwaarden in huidige studie liggen hoger dan de geometrisch gemiddelden in Duitsland. In een andere Duitse studie (Heudorf et al. 2006) werd bij kinderen van 2 tot 17 jaar gerapporteerd dat de gehalten van DETP, DEDTP en DMDTP onder de detectielimiet gelegen waren, net zoals in deze studie (LOQ 5 µg/L voor DMP en 1 µg/l voor de andere metabolieten). De mediaan voor DMP was 14 µg/L, voor DMTP bedroeg de mediaan 8,3 µg/L en voor DEP 3,8 µg/L. De gehalten aan DMTP en DEP liggen in onze studie iets hoger, in tegenstelling tot DMP dat hier maar bij 4 van de 10 deelnemers gedetecteerd kon worden.

Conclusie organofosfaatmetabolieten:

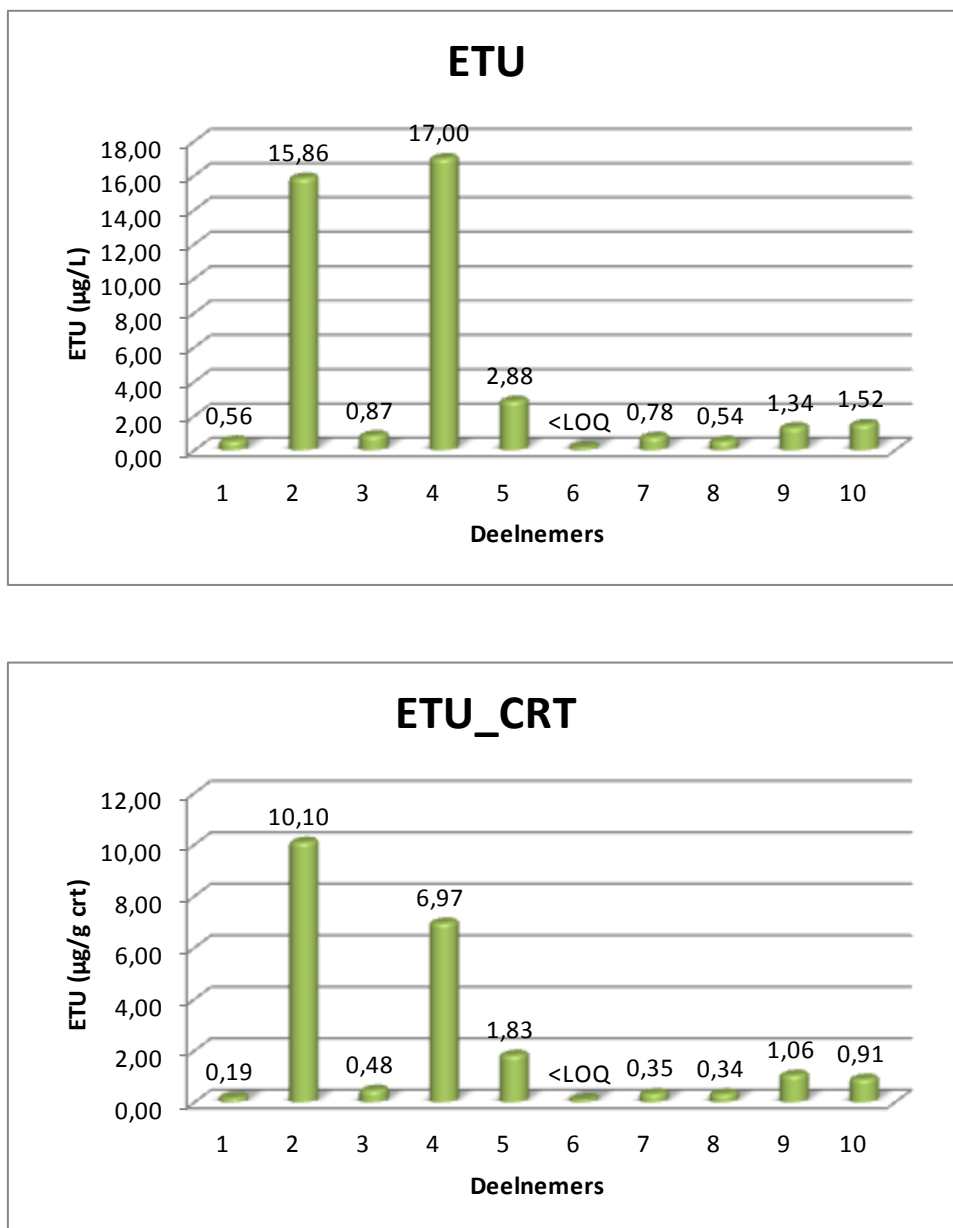
Samengevat worden in alle bovenstaande studies ongeveer dezelfde metabolieten het frequents gedetecteerd, maar de mediaanwaarden in huidige studie liggen hoger in vergelijking met de Vlaamse biomonitoringcampagne en de internationale studies.

In tegenstelling hiermee bleek de TCPy metaboliet wel detecteerbaar in NHANES (vergelijkbare LOD) en niet in huidige studie, dit wijst erop dat de 10 adolescenten in deze studie recent niet in contact gekomen zijn met chloorpyrifos. De voornaamste niet-specifieke metaboliet van chloorpyrifos is DETP, ook deze metaboliet werd slechts bij 4 van de 10 deelnemers gedetecteerd. Uit de vragenlijsten komt ook geen specifiek gebruik van chloorpyrifos naar voor. De relatief hoge concentraties van een aantal niet-specifieke organofosfaatmetabolieten wijst op blootstelling aan andere organofosfaatpesticiden.

Analyse gebeurde a.h.v. LC-MS, in het Steunpunt werd GC-MS gebruikt voor de niet-specifieke metabolieten. Met deze laatste kunnen lagere LOQ's bekomen worden, maar hier moet er rekening gehouden worden met de procedureblanco. In vergelijking met het Steunpunt werden rapporteergrenzen in dezelfde grootte orde bekomen. Via LC-MS kunnen zowel de niet-specifieke metabolieten als TCPy in eenzelfde methode gemeten worden, wat een aanzienlijke reductie van de kostprijs met zich meebrengt. Indien de niet-specifieke metabolieten geanalyseerd worden met GC-MS moet voor TCPy een aparte LC-MS methode ingezet worden. De LOD voor TCPy zou mogelijk nog iets verlaagd kunnen worden met inname van een grotere hoeveelheid urine, maar enkel op voorwaarde dat het achtergrondsignaal niet toeneemt.

4.5. MANCOZEB

Mancozeb werd geanalyseerd in de urine van 10 deelnemers. De ETU gehaltes varieerden tussen <LOQ en 10,10 $\mu\text{g/g crt}$ (17,00 $\mu\text{g/L}$), voor 2 jongeren lag de ETU waarde in urine veel hoger ten opzicht van de andere 8 deelnemers (Figuur 9).



Figuur 9: Concentratie ETU per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder)

In Tabel 61 wordt de beschrijvende statistiek gegeven van de ETU metingen. De mediaan bedroeg 0,70 µg/g creatinine (1,11 µg/L). Voor alle deelnemers kon het ETU gehalte gedetecteerd worden, voor één van de 10 deelnemers lag het niveau onder de LOQ van 0,5 µg/L (LOD 0,1 µg/L).

Tabel 61: Beschrijvende statistiek voor ETU.

biomarker	eenheid	N	%>LOD*	%>LOQ*	P50 (P25-P75)	min-max
ETU	µg/L	10	100%	90%	1,11 (0,56-2,88)	<0,5-17,0
ETU	µg/g crt	10	100%	90%	0,70 (0,34-1,83)	<0,5-10,10

Afkortingen: ETU ethyleentiourem, CRT creatinine GM geometrisch gemiddelde BI betrouwbaarheidsinterval
P percentiel LOQ kwantificatielimiet LOD detectielimiet

*LOD = 0,1 µg/L, LOQ = 0,5 µg/L

De waarden voor ETU bij de jongeren in deze studie liggen ongeveer in dezelfde grootte-orde als de niveaus die gerapporteerd werden in andere buitenlandse studies (zie Tabel 45). Een voorbeeld is een Italiaanse studie van Colosio et al. (2006) bij 93 deelnemers uit de algemene populatie waarbij een gemiddelde ETU waarde van 0,6-0,8 µg/g crt opgetekend werd met waarden die variëren onder de detectielimiet van 0,4 µg/L en 11,6 µg/g crt, wat sterk overeenkomt met de bevindingen in deze studie. In tegenstelling hiermee liggen meer dan 90% van de waarden in de NHANES studie onder de LOD. Deze bedroeg net zoals in deze studie 0,10 µg/L, wat er wijst dat in de Verenigde Staten veel minder mancozeb gebruikt wordt dan in Europa.

In het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid werd ETU reeds gemeten in mengstalen. De LOD bedroeg 0,1 µg/L, de LOQ 0,5 µg/L, zoals in huidige studie. De gemiddelde waarden per provincie schommelden daar rond hetzelfde niveau als het gemiddelde in de huidige studie (zie Tabel 44). Hier zien we wel een groot verschil in het ETU gehalte voor 2 deelnemers, zulke individuele verschillen kunnen niet opgepikt worden bij metingen in mengstalen.

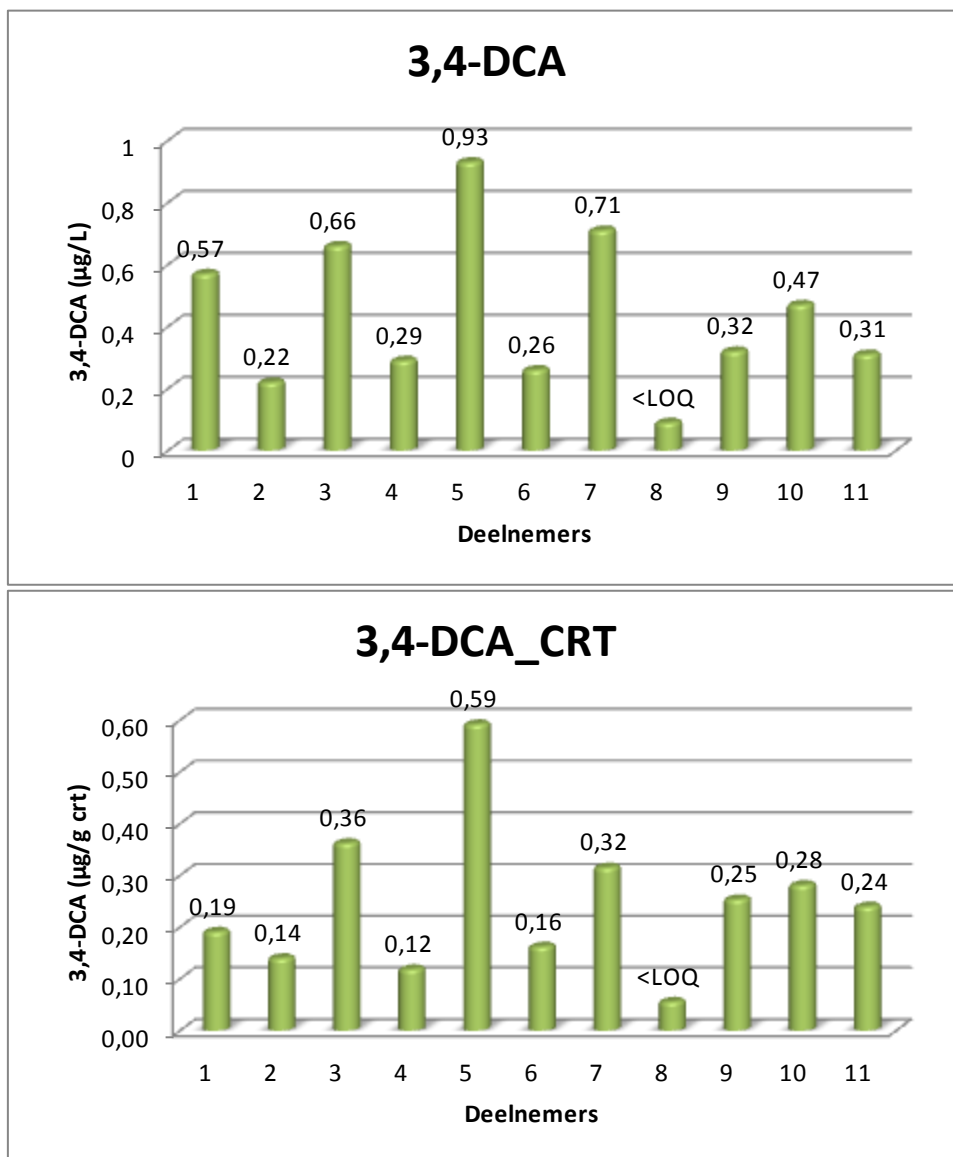
Uit de vragenlijstgegevens blijkt niet dat er een deelnemer blootgesteld werd aan mancozeb via persoonlijk gebruik of gebruik binnen het gezin. Mancozeb bezit slechts een korte halfwaardetijd in de mens, wat er op wijst dat de 2 deelnemers met de hoge ETU concentratie kort voor de staalname onbewust blootgesteld werden aan mancozeb. Naast blootstelling aan mancozeb kan ook blootstelling aan maneb, een stof die ook afbreekt tot ETU, een rol spelen, maar dit wordt veel minder gebruikt dan mancozeb. In een Italiaanse studie uit 2005 bleek dat personen in de controlegroep minder dan de LOQ van 1,60 µg/g creatinine ETU in de urine bezat, ten opzichte van een blootgestelde groep (wijngaard) waar de concentraties varieerden tussen 1,60 en 40,1 µg/g creatinine (Fustinonia et al. 2005). ETU wordt hier bij alle deelnemers gedetecteerd, ondanks de korte halfwaardetijd, dit impliceert dat het product ofwel heel frequent gebruikt wordt of dat het mogelijks in lage concentratie in het lichaam aanwezig blijft omdat de meeste bestrijdingsmiddelen een eerder eerste orde kinetiek volgen en exponentieel afnemen in het lichaam (Nofziger en Wu, 2011, Walker 1974).

Conclusie mancozeb:

ETU lag bij 9 van de 10 deelnemers boven de LOQ. Vooral de grote variabiliteit valt hier op, vooral voor 2 deelnemers, wat niet kon opgepikt worden uit de metingen op mengstalen in het Steunpunt Milieu & Gezondheid. Uit de vragenlijstgegevens kwam geen specifiek gebruik van mancozeb (of maneb) naar voor. Er werd gemeten met eenzelfde LOD als in het Steunpunt Milieu & Gezondheid en de Amerikaanse NHANES studie.

4.6. LINURON

De metaboliet van linuron 3,4-DCA werd gemeten in de urine van 11 deelnemers, en kon bij alle jongeren gedetecteerd worden, 1 deelnemer bezat een waarde onder de LOQ van 0,1 µg/L. Er zat weinig variatie op de 3,4-DCA concentraties die varieerden tussen <LOQ) en 0,59 µg/g crt (0,93 µg/L) (Figuur 10).



Figuur 10: Concentratie 3,4-DCA per deelnemer in volume-eenheid (boven) en per gram creatinine (onder)

Een overzicht van de beschrijvende statistiek voor 3,4-DCA wordt weergegeven in Tabel 62. 3,4-DCA kon bij 10 van de 11 deelnemers gedetecteerd worden, de mediaan bedroeg 0,24 µg/g crt (0,32 µg/L).

Tabel 62: Beschrijvende statistiek voor 3,4-DCA.

biomarker	eenheid	N	%>LOD*	%>LOQ*	P50 (P25-P75)	min-max
3,4-DCA	µg/L	11	100	91	0,32 (0,26-0,66)	<0,1-0,93
3,4-DCA	µg/g crt	11	100	91	0,24 (0,14-0,32)	<0,1-0,59

Afkortingen: 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline, CRT creatinine GM geometrisch gemiddelde BI betrouwbaarheidsinterval P percentiel LOQ kwantificatielimiet LOD detectielimiet

*LOD = 0,025 µg/L, LOQ = 0,1 µg/L

Het was mogelijk om de metaboliet te detecteren met een detectielimiet die 10 keer lager lag dan in het Steunpunt Milieu & Gezondheid. In de Vlaamse biomonitoringstudie lagen alle waarden onder de detectielimiet in tegenstelling tot huidige studie waarbij 3,4-DCA bij 10 van de 11 deelnemers gedetecteerd kon worden. Indien hier gemeten zou worden met eenzelfde detectielimiet als in het 2^e Steunpunt zou ook hier 3,4-DCA bij geen enkele deelnemer gedetecteerd kunnen worden.

In een Duitse studie (Wittke et al. 2001) kon 3,4-DCA gedetecteerd worden met een vergelijkbare detectielimiet als in huidige studie. De concentraties lagen in deze Duitse studie tussen 0,13 en 0,34 µg/g crt, wat ook in dezelfde grootte orde ligt als bij de jongeren hier. In Italië (Turci et al. 2006) kon een detectielimiet van 0,005 µg/L bekomen worden, een factor 5 lager dan in deze studie. De 3,4-DCA gehalten varieerden sterker en lagen tussen 0,01 en 6,19 µg/L, waarbij er nog 18% van de resultaten onder deze lage detectielimiet lag.

Uit de vragenlijstgegevens bleek dat 2 deelnemers recent blootgesteld werden aan linuron. Deze deelnemers hadden 0,19 en 0,24 µg/g crt 3,4-DCA in hun urine, en situeren zich dus net onder of op de mediaan van de hele studiegroep. Beide deelnemers rapporteerden de blootstelling aan linuron 2 weken voor de staalname. Linuron bioaccumuleert niet, dus mogelijk is deze blootstelling al iets te lang geleden om dit duidelijk op te pikken in de urine. De deelnemer met het hoogste 3,4-DCA gehalte in de urine gaf in de vragenlijst aan dat er de afgelopen week sproeistoffen gebruikt werden op fruitbomen in de tuin voor eigen consumptie. Er werd geen productnaam genoteerd, waardoor we niet kunnen achterhalen of hier eventueel linuron gebruikt werd.

Conclusie linuron:

Zoals beloofd kon 3,4-DCA geanalyseerd worden met een LOD die 10 keer kleiner was dan in het Steunpunt Milieu & Gezondheid, waardoor 3,4-DCA bij 10 van de 11 deelnemers boven de LOQ lag. Twee deelnemers werden 2 weken voor de staalname blootgesteld aan linuron, maar dit was niet zichtbaar in de analyseresultaten. Er zat weinig variabiliteit op de resultaten.

4.7. SAMENVATTING RESULTATEN

In Tabel 63 wordt een overzicht getoond van de waarden voor alle gemeten biomerkers per deelnemer (uitgezonderd TCPy, DMP en DMDTP, want deze lagen onder de detectielimiet of konden niet gerapporteerd worden wegens interferentie). Voor deelnemer 7 werden relatief lage waarden opgetekend voor de OP metabolieten, ook het ETU gehalte ligt laag voor deze adolescent. Opvallend is dat deelnemer 4, één van de deelnemers met hoog ETU gehalte, ook de enige deelnemer was waarvoor DEDTP opgepikt kon worden. Deelnemer 2, waarvoor ook een hoog ETU gehalte gemeten werd, had ook de hoogste concentratie DETP in de urine. Voor deelnemer 8 werden hoge gehalten van de OP metabolieten gemeten, dit wordt niet weerspiegeld door hoge concentraties ETU of 3,4-DCA. Voor deelnemer 9 werd een hoge waarde gemeten voor AMPA (= metaboliet van glyfosaat), terwijl de waarde van glyfosaat zelf onder de kwantificatielimiet lag.

Tabel 63: Vergelijkend overzicht biomerkers* in µg/g creatinine

Deelnemer	DEP	DETP	DMTP	DEDTP	glyfosaat	AMPA	ETU	3,4-DCA
1	4,11	1,76	16,31	<LOQ	0,50	0,58	0,19	0,19
2	2,51	4,04	20,25	<LOQ	0,30	0,23	10,10	0,14
3	6,74	<LOQ	14,34	<LOQ	0,30	0,70	0,48	0,36
4	interferentie	<LOQ	38,57	16,95	<0,2	0,22	6,97	0,12
5	14,30	<LOQ	26,43	<LOQ	0,69	0,62	1,83	0,59
6	2,55	<LOQ	25,88	<LOQ	0,89	0,47	0,13	0,16
7	<LOQ	<LOQ	15,02	<LOQ	0,31	<0,20	0,35	0,32
8	6,64	2,93	41,80	<LOQ	0,22	0,33	0,34	0,06
9	interferentie	<LOQ	18,25	<LOQ	<0,2	1,98	1,06	0,25
10	6,82	2,89	29,82	<LOQ	<0,2	0,30	0,91	0,28
11**	/	/	/	/	0,31	0,31	/	0,24

Afkortingen: TCPy 3,5,6-trichloro-2-pyridinol, DMP dimethylfosfaat; DMTP dimethylthiofosfaat; DMDTP dimethyldithiofosfaat; DEP diethylfosfaat; DETP diethylthiofosfaat; DEDTP diethyldithiofosfaat; LOQ kwantificatielimiet; ETU ethyleenthioureum; 3,4-DCA 3,4-dichloroaniline

*TCPy en DMP worden niet weergegeven, want lag allemaal onder de detectielimiet, DMDTP wordt niet weergegeven wegens interferentie op de metingen

** Voor deelnemer 11 werd enkel glyfosaat en 3,4-DCA geanalyseerd

Als we de biomarkerwaarden vergelijken met de woonomgeving van de deelnemers (zie Tabel 64), valt op dat deelnemer 7 met de laagste biomarkerwaarden ook minder dicht in de buurt van groententeelt, fruitteelt, een akker of een grasland woont in vergelijking met de andere deelnemers. In overeenstemming woont deelnemer 8, waarvoor relatief hoge waarden gerapporteerd werden voor de OP metabolieten, op minder dan 100m van fruitteelt en een akker en op minder dan 500m van een grasland. Deelnemer 5 woont op minder dan 500m van groententeelt, fruitteelt, een akker en een grasland en heeft ook vrij hoge biomarkergehalten in de urine; hetzelfde geldt voor deelnemer 2 die op minder dan 100m van fruitteelt, een grasland en een akker woont. In tegenstelling hiermee zien we dat deelnemer 4 niet binnen een straal van 500m woont van groententeelt, fruitteelt, een akker of een grasland, en toch hoge biomarkergehalten in de urine had. Dit kan mogelijk verklaard worden door het eten van zelfgekweekt fruit waarop sproeistoffen gebruikt werden, wat bleek uit de vragenlijst van deze deelnemer. Anderzijds woont deelnemer 9 dicht bij de verschillende landbouwtypes, terwijl deze adolescent toch relatief lage OP waardes heeft, wat er op wijst dat in de periode voor de staalname in zijn buurt weinig organofosfaatpesticiden gebruikt werden of dat deze deelnemer de dagen voor de staalname niet

thuis was of niet veel buiten kwam. Deze deelnemers had wel een hoge waarde voor AMPA, de metaboliet van glyfosaat.

Tabel 64: Overzicht van de woonomgeving per deelnemer uitgedrukt in de afstand t.o.v. de woonplaats van de deelnemer

Deelnemer	groententeelt	fruitteelt	akker	grasland
1	<100m	<100m	100-500m	<100m
2	/	<100m	<100m	<100m
3	500-1000m	/	500-1000m	<100m
4	>1000m	/	>1000m	500-1000m
5	100-500m	<100m	<100m	100-500m
6	/	<100m	<100m	/
7	/	100-500m	500-1000m	/
8	>1000m	<100m	<100m	100-500m
9	100-500m	<100m	<100m	<100m
10	/	100-500m	500-1000m	<100m
11	<100m	<100m	100-500m	<100m

/ betekent dat de deelnemer niet in de buurt woont van fruitteelt, groententeelt, een akker of een grasland

HOOFDSTUK 5. CONCLUSIE EN BELEIDSAANBEVELINGEN

In de tweede generatie van het Steunpunt Milieu & Gezondheid (2007-2011), uitgevoerd in opdracht van de Vlaamse overheid, werd de aanwezigheid van milieuvervuilende stoffen gemeten in een steekproef van de Vlaamse bevolking. Hierbij werden ook een aantal bestrijdingsmiddelen opgenomen, zoals o.a. organofosfaatpesticiden, para-dichloorbenzeen, carbamaatpesticiden, ... Uit deze studie bleek dat voor een heel aantal van deze bestrijdingsmiddelen een hoog percentage van de stalen onder de detectielimiet zat. Een verdere optimalisatie van de humane biomonitoringscampagne met betrekking tot hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen is aan de orde, dit vormt een hoeksteen om verdere beleidsmaatregelen te prioriteren en te onderbouwen.

Voor het uitwerken van deze studie werd gestart met de selectie van prioritaire bestrijdingsmiddelen, waarvoor een meetbare biomarker beschikbaar is. Via het samenleggen van een aantal databanken rond gebruik en voorkomen in het milieu, en literatuurgegevens rond hormoonverstorende toxiciteit en beschikbaarheid van biomerkers werden uiteindelijk 4 bestrijdingsmiddelen en bijhorende biomerkers geselecteerd.

5.1. GLYFOSAAT

De meting van glyfosaat in urine is niet eenvoudig. Op basis van de literatuur, waar detectielimieten van 0,1 tot 1 µg/L worden gerapporteerd, werd vooropgesteld dat de LOD minstens 1 µg/L moest bedragen. Het Belgische laboratorium dat oorspronkelijk selecteerd was, deed een methode optimalisatie, maar slaagde er niet in om een LOD lager dan 5 µg/L te bekomen. Ook de ELISA kit die op de markt beschikbaar is, bleek niet voldoende gevoelig te zijn (LOD: 7,5 µg/L). Om een kwantificatielimiet te halen die voldoende laag was, werd de meting uitbesteed aan een Duits laboratorium. Naast glyfosaat werd ook AMPA (= metaboliet van glyfosaat) gemeten in de urine. De meting van AMPA in de urine is zeer nieuw, er werden geen vergelijkingswaarden uit bevolkingsstudies teruggevonden in de literatuur.

De resultaten tonen aan dat glyfosaat en AMPA met de huidige methode (LOQ: 0,2 µg/L) detecteerbaar zijn bij respectievelijk 73% en 91% van de deelnemers. De niveau's van glyfosaat die werden gemeten zijn echter laag in vergelijking met de literatuur. De mediaan in de huidige studie ligt ongeveer 5 tot 10 maal lager in vergelijking met geometrische gemiddelden die gerapporteerd werden bij kinderen, vrouwen van landbouwers of landbouwers zelf. Voorzichtige interpretatie is nodig omwille van de kleine groep in de huidige studie die in een zeer korte periode gerekruteerd werden, waardoor er mogelijk slechts een beperkte variatie van de blootstelling is. De gemeten waarden liggen wel binnen de referentierange die het laboratorium zelf opgeeft.

Aangezien er momenteel nog geen gegevens van glyfosaat in urine beschikbaar zijn in Vlaanderen en aangezien de analysemethode die gebruikt werd vrij recent ontwikkeld werd, is op dit moment moeilijk te evalueren of de huidige lage waarden voor glyfosaat te wijten zijn aan een reële lage blootstelling, aan een mogelijke selectiebias van de deelnemers of aan de meetmethode.

Glyfosaat werd in deze studie als eerste prioriteit geselecteerd op basis van verschillende argumenten: 1) frequent gebruik en voorkomen in het milieu; 2) beperkte biomonitoringsgegevens in de Vlaamse bevolking; 3) toenemende bezorgdheid voor gezondheidsrisico's. Op basis van de prioriteitstelling en op basis van de hoge detectiefrequentie, maar relatief lage absolute waarden in

de huidige studie, zou het zinvol zijn om een meer uitgebreide studie naar de blootstelling aan glyfosaat uit te voeren in Vlaanderen. Hierbij is het aan te raden om de rekrutering te spreiden over meerdere seizoenen en eventueel over meerdere leeftijdsklassen. Om de keuze van het laboratorium te verantwoorden is het tevens noodzakelijk om een meer gedetailleerd validatiedossier te vragen van de gebruikte methode. Aangezien het Duitse laboratorium momenteel deelneemt aan een Europese validatiestudie, is dit misschien mogelijk op relatief korte termijn. Indien het om strategische redenen nuttig is om ook Belgische laboratoria te betrekken, zou dit nog verder verkend kunnen worden. Dit was binnen het korte tijdsbestek van de huidige studie niet mogelijk.

5.2. TCPY EN ANDERE ORGANOFOSFAATMETABOLIETEN

Bij geen enkele deelnemer kon TCPy gedetecteerd worden. Chloorpyrifos wordt vooral gebruikt in de teelt van kolen, niet in de fruitteelt, wat de niet-detectie hier in de fruitstreek mogelijks kan verklaren. De detectiefrequentie van de andere niet-specifieke organofosfaatmetaboliëten was variabel, maar de wel/niet-gedetecteerde metaboliëten kwamen grotendeels overeen met het Steunpunt Milieu & Gezondheid en andere internationale biomonitoringstudies. De hoogste concentraties werden teruggevonden voor DMTP, gevolgd door DEP en DETP. Uit de vragenlijsten kwam geen specifieke informatie naar voor wat betreft gebruik van organofosfaatpesticiden, maar de relatief hoge concentraties die voor een aantal metaboliëten werden teruggevonden wijzen toch op blootstelling aan één of meerdere organofosfaatproducten. De adolescenten kwamen waarschijnlijk niet in aanraking met chloorpyrifos aangezien TCPy niet meetbaar was. In andere studies (zie pagina 48) bleek TCPy wel detecteerbaar, o.a. in de Amerikaanse NHANES studie. De LOD in deze studie lag slechts 0,1 µg/L lager dan in onze studie, wat de verschillen niet kan verklaren. In deze pilootstudie kon bij 10 deelnemers chloorpyrifos blootstelling niet bepaald worden. Gezien de prioritaire rangschikking naar gebruik en voorkomen in Vlaanderen en het feit dat het bestrijdingsmiddel wel gedetecteerd kon worden in buitenlandse studies, betekent dit niet dat interne blootstelling aan chloorpyrifos niet relevant is in algemeen Vlaanderen. Een mogelijke piste om dit te onderzoeken is het analyseren van TCPy in urinestalen van vroegere biomonitoringcampagnes waarvan stalen in de biobank bewaard werden. Hierbij is het wel belangrijk om de plaats en het tijdstip van staalname te kennen om de resultaten te kunnen interpreteren.

Er werd overgeschakeld van een GC-MS methode in het 2^e Steunpunt naar LC-MS in deze studie om TCPy en de niet-specifieke metaboliëten in eenzelfde methode te kunnen meten. Een aantal waarden konden niet betrouwbaar gerapporteerd worden wegens interferentie. De GC-MS methode is iets gevoeliger, maar hier moet er rekening gehouden worden met de procedureblanco waardoor de rapporteergrenzen stijgen. Dit leidde tot vergelijkbare rapporteergrenzen in het Steunpunt en huidige studie.

Indien enkel de niet-specifieke organofosfaatmetaboliëten geanalyseerd moeten worden gaat de voorkeur naar GC-MS, omdat er minder storing is van de matrix en lagere LOD's bekomen kunnen worden, maar dan wel enkel als de procedureblanco goed beheerst kan worden. Maar de GC-MS methode is omslachtiger wegens een extra derivatiseringsstap, waardoor TCPy niet met dezelfde methode gemeten kan worden. Dit betekent dat 2 methodes ingezet moeten worden (GC-MS voor de niet-specifieke metaboliëten en LC-MS voor TCPy), wat een aanzienlijk verschil teweegbrengt in de kostprijs.

5.3. MANCOZEB

Voor de biomerker voor mancozeb, ETU, bleken er 2 deelnemers een hogere waarde te bezitten in vergelijking met de 8 andere adolescenten. Vermoedelijk werden deze 2 jongeren kort voor de staalname onbewust blootgesteld aan mancozeb. Dit bestrijdingsmiddel bezit een zeer korte

halfwaardetijd, hierdoor wordt het tijdstip van de staalname nog belangrijker. Indien stalen genomen worden op een moment waarop mancozeb niet toegepast wordt, zal het ook weer snel verdwijnen uit het lichaam waardoor de blootstelling niet opgepikt kan worden. Evenwel kon ETU in de urine van bijna alle andere deelnemers gedetecteerd worden, maar aan een veel lagere concentratie.

ETU werd in het Steunpunt Milieu & Gezondheid in mengstalen gemeten; in huidige studie zien we dat er toch een grote variatie bestaat tussen de verschillende deelnemers wat betreft de ETU-gehalten, wat niet mogelijk was om op te pikken in de mengstalen. In beide studies werd dezelfde detectielimiet gehanteerd, ook in de Amerikaanse biomonitoringsstudie gebruikte men dezelfde detectielimiet. Deze LOD blijkt voldoende laag te zijn om ETU op te pikken bij de deelnemers in deze studie en in algemeen Vlaanderen. In deze studie valt vooral de grote variabiliteit tussen de deelnemers op, wat in toekomstige campagnes misschien interessante informatie kan opleveren i.v.m. eventuele relaties met gezondheidseffecten.

5.4. LINURON

De metaboliet van linuron, 3,4-DCA, was detecteerbaar bij bijna alle adolescenten. De gehalten lagen relatief laag, varieerden weinig en lagen allemaal onder 0,60 µg/g crt of 1 µg/L. Voor 3,4-DCA werd in deze studie, zoals door het laboratorium beloofd, de analyse uitgevoerd met een detectielimiet die 10 keer lager lag dan in het 2^e Steunpunt Milieu & Gezondheid. In tegenstelling tot het Steunpunt lagen in deze studie alle gehalten boven de detectielimiet. Als de meting gebeurd zou zijn met dezelfde detectielimiet dan in het Steunpunt zou ook hier voor geen enkele deelnemer 3,4-DCA gedetecteerd geweest zijn, wat betekent dat de methode optimalisatie zeer nuttig bleek. Met deze nieuwe methode ligt de LOD in dezelfde grootte orde als in het buitenland, en volstond deze om 3,4-DCA op te pikken bij onze deelnemers. Door deze biomerkers mee te nemen in toekomstige biomonitoringcampagnes kan onderzocht worden of 3,4-DCA in algemeen Vlaanderen kan gedetecteerd worden met deze nieuwe methode ontwikkeld door Richrom.

5.5. LABORATORIUMANALYSES

Gezien de gehalten van een aantal biomerkers vaak rond of onder de detectielimiet liggen, is bij de keuze van een analyselaboratorium naast de prijs en de kwaliteitsvereisten ook zeker de haalbare detectielimiet zeer belangrijk. Er moet steeds getracht worden de methodes zo te optimaliseren om tot een zo laag mogelijke klinisch relevante detectielimiet te komen. Ook dient er rekening gehouden te worden met de analysetijd, voor de methode optimalisatie van nieuwe biomerkers werd er veel tijd in beslag genomen. In deze studie werd gekozen voor urine als matrix, wat als grote voordeel heeft dat de collectie relatief eenvoudig is. Anderzijds bevat een urinestaal zeer veel afvalstoffen, wat de opzuivering voor de meting met massaspectrometrie kan bemoeilijken voor sommige biomerkers, zoals bv. voor glyfosaat. De afname van een bloedstaal is veel invasiever, wat de deelnemers kan afschrikken. Daarnaast kan een urinestaal in veel grotere volumes afgenomen worden t.o.v. een bloedstaal, waardoor in grotere biomonitoringstudies een grote hoeveelheid analyses op één urinestaal kan gebeuren. Ook het vergelijkingsmateriaal dat beschikbaar is in de internationale literatuur kan een rol spelen bij de keuze van de matrix.

Uit dit pilootproject blijkt dat het meten van biomerkers van bestrijdingsmiddelen in urine niet evident is, enerzijds omdat de blootstelling aan bestrijdingsmiddelen sterk varieert doorheen het jaar, maar anderzijds brachten de laboratoriumanalyses problemen met zich mee. Als er optimalisaties nodig zijn van de methode, wat in deze studie ook bleek, is het in de toekomst eventueel ook een optie om stalen op te sturen naar laboratoria die al ervaring hebben met de betrouwbare meting van een bepaalde biomarker om tijd te besparen. Deze piste werd in eerste instantie voor dit project niet bekeken, omdat de laboratoria hier al ervaring hadden met de meting

van organofosfaatmetabolieten, ETU en 3,4-DCA in urine in het 2^e Steunpunt, en met de meting van glyfosaat in afvalwater. Uiteindelijk bleek de analyse van glyfosaat in urine complex te zijn, waardoor opsturen naar buitenlandse laboratoria die beantwoorden aan de vooropgestelde kwaliteitscriteria toch een optie wordt.

Via massaspectrometrie is het mogelijk om mengsels te meten van stoffen met gelijkaardige functionele groepen. Meting van mengsels in eenzelfde analyse betekent een reductie van de nodige analysetijd. De bepalende stap in de methode is de opzuivering van het staal, stoffen die verschillen in functionele groepen kunnen niet met dezelfde methode opgezuiverd worden en kunnen dus niet in eenzelfde run gemeten worden. In dit project werd de specifieke metaboliet van chloorpyrifos TCPy en de gemeenschappelijke organofosfaatmetabolieten DEP, DETP, DEDTP, DMP, DMTP en DMDTP in eenzelfde analyse bepaald.

Naast de bestrijdingsmiddelen die in deze studie geselecteerd werden voor de veldstudie, zijn er uiteraard nog andere bestrijdingsmiddelen die veelvuldig gebruikt worden in Vlaanderen en ook hormoonverstorende of andere toxische eigenschappen vertonen. Zo worden bijvoorbeeld middelen als diflufenican, flufenacet, carbendazim en oxadiazon frequent boven de norm aangetroffen in het oppervlaktewater in Vlaanderen in 2011 (VMM), wat een belangrijke blootstellingsroute kan zijn voor de algemene bevolking. Voor carbendazim en flufenacet bleek uit het literatuuronderzoek dat er weinig informatie beschikbaar is over geschikte biomerkers voor deze bestrijdingsmiddelen, waardoor uitgebreide methode optimalisaties nodig zijn om deze biomerkers te kunnen meten in het lichaam.

Als er weinig informatie beschikbaar is over biomonitoringsgegevens van bepaalde bestrijdingsmiddelen, betekent dit niet dat deze bestrijdingsmiddelen geen belangrijke belasting kunnen betekenen voor ons lichaam. Verdere investeringen in methode optimalisaties voor de meting van niet alleen hormoonverstorende, maar ook andere toxische bestrijdingsmiddelen die veelvuldig gebruikt worden en teruggevonden worden in het milieu, kunnen hiervoor een oplossing bieden.

Waar de focus binnen dit project uiteindelijk eerder lag op bestrijdingsmiddelen die toegepast worden in de landbouw, de zogenaamde gewasbeschermingsmiddelen, is het voor toekomstig onderzoek tevens belangrijk aandacht te hebben voor biociden. Bestrijdingsmiddelen als houtbeschermende verf, anti-vlooi- en luizenmiddelen, muggen- en vliegenverdelgsmiddelen... Verwacht wordt dat de binnenshuisblootstelling aan deze middelen veel hoger is dan aan middelen voor landbouwkundig gebruik.

Hierbij denken we ook aan de lijst met hulpstoffen; soms blijkt namelijk niet het bestrijdingsmiddel zelf een toxisch effect uit te oefenen, maar eerder de hulpstof, of de combinatie van werkzame stof en hulpstof waarmee het bestrijdingsmiddel geformuleerd wordt, bv. polygeëthoxileerde tallow amine (POEA) bij glyfosaat of piperonyl butoxide dat als synergist vooral in combinatie met biologische pyrethroïdeninsecticiden geformuleerd wordt. Voor deze insecticide synergist werd bewijs van hormoonverstoring gevonden, maar er werd zeer weinig informatie teruggevonden over een beschikbare biomarker of eventuele standaarden die gebruikt kunnen worden voor kwantitatieve bepalingen. Ook wat betreft glyfosaat werd in een aantal studies aangehaald dat niet glyfosaat maar de hulpstof waarmee het geformuleerd wordt, zou instaan voor de endocrien verstorende werking. Glyfosaat kan dan wel dienen als proxy voor het gebruik van glyfosaat-gebaseerde herbicideformuleringen. Uitgebreid literatuuronderzoek en eventuele methode optimalisatie voor de laboratoriumanalyses van geselecteerde hulpstoffen zijn belangrijk om deze vorm van blootstelling in kaart te brengen.

5.6. BLOOTSTELLING

Uit de vragenlijstgegevens bleek dat drie deelnemers blootgesteld werden aan glyfosaat via toepassing van het bestrijdingsmiddel binnen het gezin. Bij de drie personen die in de vragenlijst aangaven dat er glyfosaat gebruikt was door één van de gezinsleden (buitenshuis), lagen de waarden voor glyfosaat en AMPA niet hoger in vergelijking met de acht andere personen. Het gebruik dateerde echter van 1 tot 2 weken voor de urinecollectie; mogelijk is deze periode te lang om de interne blootstelling nog op te pikken (korte halfwaardetijd van glyfosaat in het lichaam).

Uit de vragenlijstgegevens bleek ook dat twee deelnemers aan linuron waren blootgesteld via toepassing van het bestrijdingsmiddel binnen het gezin. De resultaten voor linuron in urine weerspiegelen deze blootstelling uit de vragenlijsten niet. Dit is mogelijk te verklaren door een te lange periode tussen blootstelling en staalname. Anderzijds kan de persoon met de hoogste waarde aan 3,4-DCA wel in contact gekomen zijn met linuron, maar werd dit niet genoteerd in de vragenlijst.

Daarnaast zijn er ook deelnemers die volgens de vragenlijstgegevens niet blootgesteld werden aan één van de gemeten biomerkers via persoonlijk gebruik of gebruik binnen het gezin, en toch hoge biomerkerswaarden optekenden, wat er op wijst dat deze jongeren onrechtstreeks en onbewust blootgesteld werden aan deze bestrijdingsmiddelen. Het is moeilijk om elke blootstelling te bevragen in de vragenlijst, omdat de deelnemers ook blootgesteld kunnen worden aan bestrijdingsmiddelen in hun omgeving zonder dat ze het zelf weten. Bijvoorbeeld, bij 1 deelnemer werd een vrij hoge waarde van AMPA in de urine gedetecteerd, terwijl glyfosaat bij deze persoon onder de kwantificatielimiet lag. Op basis van de vragenlijstgegevens bleek dat de persoon zelf of zijn gezinsleden geen glyfosaat gebruikt hadden. Deze persoon woonde wel dicht bij grasland, bij akkers en dicht in de buurt van fruitteelt (telkens <100m van woning), maar gegevens over gebruik van herbiciden zijn hier niet beschikbaar.

Daarnaast komt uit de antwoorden op de vragenlijsten naar voor dat de adolescenten ook blootgesteld werden aan een reeks andere bestrijdingsmiddelen via applicaties binnen het gezin, zoals bv. pyrethrines en piperonyl butoxide in insectenverdelgers en antimuggenmelk of diflufenican, boscalid, fipronil en MCPA in de buitenhuisomgeving. Er is een breed gamma aan bestrijdingsmiddelen beschikbaar, en uit de vragenlijsten blijkt dat elke deelnemer recent in contact geweest is met een bestrijdingsmiddel. Meting van slechts enkele biomerkers van bestrijdingsmiddelen in de urine kan daarom nooit een volledig beeld brengen van de totale belasting op het lichaam. Personen die voor de 4 gemeten biomerkers in deze studie zeer lage waarden optekenen, kunnen evengoed zeer hoge concentraties van andere bestrijdingsmiddelen in hun lichaam hebben.

Niet alleen bestrijdingsmiddelen kunnen een hormoonverstorende werking bezitten, ook een hele reeks andere pollutanten vertonen deze eigenschap, zoals bv. bisfenol A, polygechloreerde bifenyls (PCB's), ftalaten, ... waardoor het menselijk lichaam door een verscheidenheid aan stoffen belast wordt. Verder weten we ook niet hoe verschillende bestrijdingsmiddelen mogelijks met elkaar interageren.

Vraagstellingen rond gecombineerde blootstellingen zijn moeilijk om te beantwoorden en vergen nog veel tijd en onderzoek. Onder andere omdat er voor veel bestrijdingsmiddelen nog weinig informatie is over beschikbare biomerkers, wat ook blijkt uit dit rapport (hoofdstuk 2, deel II). Met deze studie zetten we een volgende stap om de interne blootstelling aan een aantal hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen in kaart te brengen.

Voor de gemeten biomerkers in deze studie bestaan momenteel geen gezondheidkundige richtwaarden, waardoor verder wetenschappelijk onderzoek naar deze bestrijdingsmiddelen belangrijk blijft. Via *in vitro* onderzoek kunnen mogelijke gezondheidseffecten bekeken worden. Maar door biomerkers te meten in de mens zelf kan de resulterende interne blootstelling bepaald en mogelijke verbanden met gezondheidseffecten onderzocht worden. Uit het literatuuronderzoek

(hoofdstuk 2, deel II) blijkt dat de 4 bestrijdingsmiddelen die in deze studie geselecteerd werden een hormoonverstorende werking en een aantal andere toxische eigenschappen vertonen. Door de biomerkers voor bestrijdingsmiddelen mee op te nemen in toekomstige grootschalige biomonitoringscampagnes kunnen referentiewaarden bepaald worden voor algemeen Vlaanderen en bovendien via dosis-effect relaties mogelijke verbanden onderzocht worden met bv. hormoonconcentraties, fertiliteit of puberteit.

Wel blijkt uit dit pilootproject dat niet alle biomerkers gedetecteerd konden worden, blijft natuurlijk de vraag of dit in algemeen Vlaanderen ook zo is of dat dit te wijten is aan het klein aantal deelnemers. Deze vraagstelling kan enkel beantwoord worden door te gaan meten bij een grote groep personen. Hiervoor dient de afweging gemaakt te worden of er gebaseerd op gebruik en voorkomen in Vlaanderen en op de nationale en internationale literatuur evidentie is dat deze biomerkers te detecteren zijn.

5.7. BIOBANK

Naast opname van biomerkers in toekomstige biomonitoringscampagnes, worden stalen van reeds afgewerkte en nieuwe studies bewaard in een biobank. Dit biedt de mogelijkheid om retrospectief nieuwe analyses uit te voeren, indien dit nodig geacht wordt. Vooral bij de opvolging van geboortecohortes kunnen hier belangrijke nieuwe inzichten verworven worden, maar ook wanneer de analyse van een nieuwe biomarker gevalideerd moet worden, kunnen deze stalen een relatief makkelijke oplossing bieden. Voorwaarden zijn de bewaring van de stalen op een correcte temperatuur van -80°C , beschikbaarheid van vragenlijstgegevens over o.a. leeftijd, geslacht en woonplaats van de deelnemers, en de toestemming van het ethisch comité voor nieuwe analyses. In de toekomst zou het mogelijk zijn om de biomerkermetingen uit deze studie te herhalen op biobankstalen. Bijvoorbeeld voor TCPy dat in deze studie bij deelnemers in de fruitstreek niet gedetecteerd kon worden, maar wel in NHANES met een gelijkaardige detectielimiet, zou dit zeer nuttig zijn. Een belangrijke voorwaarde hierbij is de beschikbaarheid van vragenlijstgegevens om hieraan te koppelen. Deze gegevens zijn belangrijk voor een correcte interpretatie van de resultaten. Een deel van de vragen die gesteld werden in het Steunpunt Milieu & Gezondheid komen overeen met de vragen gebruikt in dit project, bv. de algemene vragen, maar ook een aantal vragen over lokale voedselconsumptie en pesticidengebruik.

We weten niet hoe stabiel de biobankstalen zijn, dus weten we niet of we biomerkers nog betrouwbaar kunnen meten op deze stalen. Om dit te onderzoeken zou er bij een biomonitoringscampagne extra budget voorzien kunnen worden, zodat er bv. jaarlijks nog eens opnieuw gemeten kan worden om de stabiliteit te checken. Ook kan er bv. gecontroleerd worden of een nieuwe methode hetzelfde resultaat geeft, wat in dit geval nuttig zou zijn voor de analyses van de organofosfaatmetabolieten.

5.8. PRAKTISCHE TIPS VOOR DE TOEKOMST

Een aantal praktische tips nuttig voor toekomstige biomonitoringscampagnes zijn o.a. dat er goed nagedacht moet worden over een geschikt laboratorium dat ervaring heeft met het uitvoeren van betrouwbare metingen voor een bepaalde biomarker, indien dit mogelijk is. De haalbare detectielimiet is een factor die zeker ook moet meespelen bij de keuze van een laboratorium. Deze laboratoria moeten voldoen aan een aantal kwaliteitsvereisten, zoals zuiverheid van recipiënten, informatie hebben over detectielimieten, ervaring met de analyses, deelnemen aan internationale ringtesten of accreditaties hebben voor deze testen. Voor elke meting moeten zij een validatiedossier opstellen dat volgende gegevens bevat: de analyseprocedure, de lineariteit, het meetbereik, de reproduceerbaarheid, de bepalingsgrens, de recovery en de selectiviteit.

Daarnaast is ook het tijdstip van staalname en de doelgroep zeer belangrijk bij biomonitoring van bestrijdingsmiddelen. Bij de interpretatie van de resultaten dient rekening te worden gehouden met het seizoen waarin de stalen worden genomen, bestrijdingsmiddelen worden immers niet het hele jaar door gebruikt. Dit betekent dat in biomonitoringsstudies waarbij de staalname verspreid wordt over een volledig jaar, de actuele biomerkerwaardes ten tijde van het effectieve gebruik van de bestrijdingsmiddelen verdoezeld kunnen worden, omdat er een in de wintermaanden nauwelijks bestrijdingsmiddelen gebruikt worden. Vooral voor de kortlevende bestrijdingsmiddelen waarvoor bewijzen zijn van endocriene verstoring, zoals mancozeb, is het toch belangrijk om hiermee rekening te houden bij de opzet van een studie. Alle bestrijdingsmiddelen worden voornamelijk gebruikt in de lente en de zomer. Concreet wordt in de groenten- en fruitteelt mancozeb vooral toegepast in de maanden juli tot en met september, linuron vooral in de lente, en chloorpyrifos van april tot en met augustus (niet in fruitteelt), daarnaast kunnen deze producten ook door particulieren gebruikt worden. Glyfosaat wordt in de landbouw vooral in de lente gebruikt om de velden proper te maken voor de teelt, maar dit wordt ook zeer frequent gebruikt door steden/gemeenten en particulieren. Daarnaast spelen ook de weersomstandigheden een rol bij de biomonitoring van bestrijdingsmiddelen. Bij regenweer worden restanten van bestrijdingsmiddelen snel weggespoeld, waardoor de mens er minder mee in contact komt, wat een lagere blootstelling teweegbrengt. Ook wind kan een invloed hebben op de verspreiding van de bestrijdingsmiddelen. Deze gegevens kunnen retrospectief opgevraagd worden bij het KMI of de dag van de staalname opgezocht worden op de website van het KMI (www.meteo.be). Bij de interpretatie van de resultaten dient ook dit in het achterhoofd gehouden te worden. Bij de kleine studiepopulatie in deze studie konden geen effecten van het weer afgeleid worden.

De juiste vraagstellingen in de vragenlijsten kunnen een belangrijke bron van informatie opleveren voor de interpretatie van de resultaten, maar vragenlijsten kunnen nooit alle antwoorden bieden. Door product-merknamen te bevragen, is het mogelijk om de werkzame stoffen waaraan deelnemers rechtstreeks blootgesteld werden te achterhalen. Uit de vragenlijstgegevens blijkt wel dat deze vragen niet altijd voldoende ingevuld werden. Daarom wordt in toekomstige vragenlijsten best zeer duidelijk gevraagd naar de specifieke naam van het gebruikte product, zodat niet enkel de naam van een firma of bv. vliegenstrip wordt ingevuld. Ook het tijdstip van blootstelling aan bepaalde bestrijdingsmiddelen moet zeer duidelijk bevraagd worden, omdat veel bestrijdingsmiddelen een korte halfwaardetijd bezitten. Andere oplossingen om te achterhalen aan welke bestrijdingsmiddelen deelnemers blootgesteld werden, zijn bv. vragenlijsten mondeling afnemen aan huis of werken met foto's van producten.

Al worden deelnemers vaak ook onbewust blootgesteld aan bestrijdingsmiddelen zonder het zelf te weten, wat uiteraard niet uit vragenlijsten zal blijken. Om een beeld hierover te krijgen, kunnen vragen over de woonplaats een oplossing bieden. Uit deze studie blijkt dat deze informatie deels de biomerkersgehalten in de urine weerspiegelt voor een aantal jongeren, maar dit geldt niet voor alle deelnemers. Daarnaast kunnen vragen over het eten van zelfgekweekte groenten of fruit waarop sproeistoffen gebruikt worden de biomerkerwaarden mede verklaren. Uit dit proefproject met slechts 11 personen, kan niet bepaald worden of de vragenlijstgegevens sterk overeenkomen met de interne blootstelling. Via de opstart van een nieuw proefproject met bv. een 100-tal deelnemers kan onderzocht worden of de blootstelling aan bestrijdingsmiddelen bepaald kan worden met enkel vragenlijsten over het gebruik van bestrijdingsmiddelen buitenshuis, binnenshuis, groententuin, ... en het wonen binnen een bepaalde afstand tot een akker, fruitteelt, groententeelt of een grasveld. Op die manier kan er getest worden of de antwoorden op de vragenlijsten een goede indicatie geven van de externe blootstelling aan bestrijdingsmiddelen. Maar via vragenlijsten zullen niet alle blootstellingen opgepikt kunnen worden, wat het belang van biomerkermetingen om ook de interne belasting van bestrijdingsmiddelen op het lichaam te onderzoeken, benadrukt.

REFERENTIES LITERATUUR

- * ADDIT (2008). Additieven in de plantenbescherming. Acroniem: ADDIT-project. Eindverslag 2004-2008, Universiteit Gent, Hogeschool Gent en Universiteit Antwerpen, 111p.
- * Aprea C et al., 2000, Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children, *Environmental Health Perspectives* 108(6): 521-525.
- * Acquavella et al. (2004) Glyphosate biomonitoring for farmers and their families: results from the farm family exposure study. *Environ Health Perspect* 112(3):321-326.
- * Adgate JL, Barr DB, Clayton CA, Eberly LE, Freeman NC, Lioy PJ, Needham LL, Pellizzari ED, Quackenboss JJ, Roy A, Sexton K (2001) Measurement of children's exposure to pesticides: analysis of urinary metabolite levels in a probability-based sample. *Environ Health Perspect* 109(6):583-90.
- * Akhtar N, Kayani SA, Ahmad MM, Shahab M (1996) Insecticide-induced changes in secretory activity of the thyroid gland in rats. *J Appl Toxicol* 16(5):397-400.
- * Antoniou M., Habib M.E.M., Howard V.C., Jennings R.C., Leifert C., Nodari R.O., Robinson C.J. & Fagan J. (2012). Teratogenic effects of glyphosate-based herbicides: divergence of regulatory decisions from scientific evidence., *Environmental & Analytical Toxicology* S4(006).
- * Aprea C et al., 2000, Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children, *Environmental Health Perspectives* 108(6): 521-525.
- * Arbuckle TE, Cole DC, Ritter L, Ripley BD. (2004) Farm children's exposure to herbicides: comparison of biomonitoring and questionnaire data. *Epidemiology* 15(2):187-94.
- * Arbuckle TE, Cole DC, Ritter L, Ripley BD (2005) Biomonitoring of herbicides in Ontario farm applicators. *Scand J Work Environ Health. Suppl* 1:90-7; discussion 63-5.
- * Arbuckle TE, Ritter L (2005) Phenoxyacetic acid herbicide exposure for women on Ontario farms. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 68:1359–1370.
- * Arcury T, Grzywacz JG, Barr DB, Tapia J, Chen H, Quandt SA (2007) Pesticide urinary metabolite levels of children in Eastern North Carolina farmworker households. *Environ Health Perspect* 115(8): 1254-1260.
- * Astiz M, Hurtado de Catalfo GE, de Alaniz MJ, Marra CA (2009) Involvement of lipids in dimethoate-induced inhibition of testosterone biosynthesis in rat interstitial cells. *Lipids* 44(8):703-18.
- * ATSDR. Toxicological profile for alpha-, beta, gamma-, and delta-hexachlorocyclohexane. www.atsdr.cdc.gov
- * ATSDR. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. www.atsdr.cdc.gov
- * Axelstad M, Boberg J, Nellemann C, Kiersgaard M, Jacobsen PR, Christiansen S, Hougaard KS, Hass U (2011) Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol Sci* 120(2):439-46.
- * Barr DB, Allen R, Olsson AO, Bravo R, Caltabiano LM, Montesano A, Nguyen J, Udunka S, Walden D, Walker RD, Weerasekera G, Whitehead RD Jr, Schober SE, Needham LL (2005) Concentrations of selective metabolites of organophosphorus pesticides in the United States population. *Environ Res.* 2005 Nov;99(3):314-26.
- * Barr DB, Angerer J (2006) Potential uses of biomonitoring data: a case study using the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and malathion. *Environ Health Perspect* 114(11):1763-9.
- * Bauer ER, Meyer HH, Stahlschmidt-Allner P, Sauerwein H (1998) *Analyst*. 1998 Dec;123(12):2485-7.
- * Becker K, Kaus S, Krause C, Lepom P, Schulz C, Seiwert M, Seifert B (2002) German Environmental Survey 1998 (GerES III): environmental pollutants in blood of the German population. *Int J Hyg Environ Health* 205(4):297-308.
- * Becker K et al. (2006) GerES IV Pilot Study: Assessment of the exposure of German children to organophosphorus and pyrethroid pesticides, *Int. J. Hyg. Environ.-Health* 209: 221–233.
- * Bhatt, M.H., Elias, M.A. & A.K. Mankodi (1999) Acute and reversible parkinsonism due to organophosphate pesticide intoxication: five cases. *Neurology* 52(7): 1467-1471.
- * Biagini RE, Smith JP, Sammons DL, MacKenzie BA, Striley CA, Robertson SK, Snawder JE (2004) Development of a sensitivity enhanced multiplexed fluorescence covalent microbead

immunosorbent assay (FCMIA) for the measurement of glyphosate, atrazine and metolachlor mercapturate in water and urine. *Anal Bioanal Chem* 379(3):368-74.

* Bisson M, Hontela A (2002) Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002 Apr 15;180(2):110-7.

* Bouchard M, Carrier G, Brunet RC, Dumas P, Noisel N (2006) Biological Monitoring of Exposure to Organophosphorus Insecticides in a Group of Horticultural Greenhouse Workers. *Ann Occup Hyg* 50(5):505-515.

* BROWSE (2012). Bystanders, Residents, Operators and WorkerS Exposure models for plant protection products, www.browseproject.eu.

* Byard J, Needham D (2006) Metabolism and excretion of piperonyl butoxide in the rat. *Xenobiotica* 36(12):1259-72.

* Cardone A, Comitato R, Angelini F (2008) Spermatogenesis, epididymis morphology and plasma sex steroid secretion in the male lizard exposed to diuron. *Environ Res*. 2008 Oct;108(2):214-23

* Cazorla-Reyes R, Fernández-Moreno JL, Romero-González R, Frenich AG, Vidal JL (2011) Single solid phase extraction method for the simultaneous analysis of polar and non-polar pesticides in urine samples by gas chromatography and ultra high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2011 Jul 15;85(1):183-96.

* Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlantézec R, Petit C, Durand G, Cordier S (2011) Urinary biomarkers of prenatal atrazine exposure and adverse birth outcomes in the PELAGIE birth cohort. *Environm Healt Persp* 119(7):1034-1041.

* Clair E, Mesnage R, Travert C, Séralini GÉ (2012) A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells in vitro, and testosterone decrease at lower levels. *Toxicol In Vitro* 26(2):269-279.

* Cook JC, Mullin LS, Frame SR, Biegel LB (1993) Investigation of a mechanism for Leydig cell tumorigenesis by linuron in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 119(2):195-204.

* Crowell SR, Henderson WM, Kenneke JF, Fisher JW (2011) Development and application of a physiologically based pharmacokinetic model for triadimefon and its metabolite triadimenol in rats and humans. *Toxicol Lett* 205(2):154-62.

* Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WY, Striley C, Heederik D, Kromhout H, Reynolds SJ, Alavanja MC (2007) Urinary pesticide concentrations among children, mothers and fathers in farm and non-farm households in Iowa. *Ann Occup* 51(1):53-65.

* Dallegrave E, Mantese FD, Oliveira RT, Andrade AJ, Dalsenter PR, Langeloh A. Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol* 81(9):665-73.

* Dalvie MA, Africa A, Solomons A, London L, Brouwer D, Kromhout H (2009) Pesticide exposure and blood endosulfan levels after first season spray amongst farm workers in the Western Cape, South Africa. *J Environ Sci Health B* 44(3):271-7.

* Dalvi RR and Deoras DP (1986) Metabolism of a dithiocarbamate fungicide thiram to carbon disulfide in the rat and its hepatotoxic implications. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)* 58(1):38-42.

* De Angelis S, Tassinari R, Maranghi F, Eusepi A, Di Virgilio A, Chiarotti F, Ricceri L, Venerosi Pesciolini A, Gilardi E, Moracci G, Calamandrei G, Olivieri A, Mantovani A (2009) Developmental exposure to chlorpyrifos induces alterations in thyroid and thyroid hormone levels without other toxicity signs in CD-1 mice. *Toxicol Sci* 108(2):311-9.

* Deschamps, C. & G. Starquit (2007) Waarom zouden we ons vergiftigen ? *Test Gezondheid* 78: 32-35.

* Di Consiglio E, De Angelis G, Traina ME, Urbani E, Testai E (2009) Effect of lindane on CYP-mediated steroid hormone metabolism in male mice following in utero exposure. *J Appl Toxicol* 29(8):648-55

* ECB: <http://ecb.jrc.it/esis/>

* Elmazoudy RH, Attia AA (2012) Endocrine-disrupting and cytotoxic potential of anticholinesterase insecticide, diazinon in reproductive toxicity of male mice. *J Hazard Mater* 209-210:111-20.

* EPA (1993) glyphosate Reregistration Eligibility Decision Facts (EPA-738-F-93-011).

- * EPA 2000, Hazard Summary-Created in April 1992; Revised in January 2000: <http://www.epa.gov/ttnatw01/hlthef/ethyl-th.html>
- * EPA (Environmental Protection Agency) (2000) 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/di-oxyac.html>
- * EPA (Environmental Protection Agency) (2007) 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D). Chemical summary. U.S. EPA, Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health, last revised 3/30/2007.
- * Eskenazi B, Harley K, Bradman A, Weltzien E, Jewell NP, Barr DB, Furlong CE, Holland NT (2004) Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fetal growth and length of gestation in an agricultural population. *Environ Health Perspect* 112(10):1116-24.
- * Eskepazi, B., Bradman, A. & R. Castorina (1999) exposures of children to organophosphate pesticides and their potential adverse health effects. *Environmental Health Perspectives Supplements* 107(S3).
- * EU, 2001, http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1_2-4-d_en.pdf
- * Europese Commissie (2005) Review report for the active substance cypermethrin finalized in the Standing Committee on the Food Chain and Animal Health at its meeting on 15 Februari 2005 in view of the inclusion of cypermethrin in Annex I of Directive 91/414/EEC. SANCO/4333/2000 final.
- * Farag A, Ebrahim H, ElMazoudy R, Kadous E (2011) Developmental toxicity of fungicide carbendazim in female mice. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 92(2):122-30.
- * FAVV (2011). Controles of pesticides residues in food, Belgium 2010; Results of the official controls in accordance to Regulation (CE) N°396/2005 and Commission Regulation (EC) N° 901/2009, Federaal Agentschap voor de veiligheid van de voedselketen.
- * Fishel, F.M. (2005) Pesticide toxicity profile: synthetic pyrethroid pesticides. University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences, doc. PI-54.
- * FOD (2012). Liste des matières actives des biocides et des quantités globales mis sur le marché belge en 2008, 2009, 2010 et 2011, 9p.
- * Fujii Y, Haraguchi K, Harada KH, Hitomi T, Inoue K, Itoh Y, Watanabe T, Takenaka K, Uehara S, Yang HR, Kim MY, Moon CS, Kim HS, Wang P, Liu A, Hung NN, Koizumi A (2011) Detection of dicofol and related pesticides in human breast milk from China, Korea and Japan. *Chemosphere* 82(1):25-31.
- * Garry VF, Tarone RE, Kirsch IR, Abdallah JM, Lombardi DP, Long LK, Burroughs BL, Barr DB, Kesner JS (2001) Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 109(5):495-500.
- * Gasnier C, Dumont C, Benachour N, Clair E, Chagnon M-C, Séralini G-E (2009) Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines.
- * Gikas E, Papadopoulos NG, Bazoti FN, Zalidis G, Tsarbopoulos A (2012) Use of liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry to study the degradation pathways of terbuthylazine (TER) by *Typha latifolia* in constructed wetlands: identification of a new TER metabolite. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2012 Jan 30;26(2):181-8.
- * Han Y, et al. (2008) The relationship of 3-PBA pyrethroids metabolite and male reproductive hormones among non-occupational exposure males. *Chemosphere* 72:785-790.
- * Heudorf, U. Butte, W., Schulz, C. & J. Angerer (2006) Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urine for human biomonitoring in environmental medicine, *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 209: 293–299.
- * Hinfrey N, Porcher JM, Brion F (2006) Inhibition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) P450 aromatase activities in brain and ovarian microsomes by various environmental substances. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 144(3):252-62.
- * Hokanson R, Fudge R, Chowdhary R, Busbee D. Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Hum Exp Toxicol*. 2007 Sep;26(9):747-52.
- * Hoppin, J.A., Umbach, D.M., London, S.J., Alavanja, M.C.R. & D.P. Sandler (2002) Chemical predictors of wheeze among farmer pesticide applicators in the agricultural health study. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 165: 683-689.

- * Houeto, P., Bindoula, G. & J.R. Hoffman (1995) Ethylenebisdithiocarbamates and ethylenethiourea: possible human health hazards. *Environmental Health perspectives* 103(6): 568-573.
- * Hu Y, Wang Y, Hu Y, Li G (2009) Liquid-liquid-solid microextraction based on membrane-protected molecularly imprinted polymer fiber for trace analysis of triazines in complex aqueous samples. *J Chromatogr A*. 1216(47):8304-11.
- * Jeong SH, Kim BY, Kang HG, Ku HO, Cho JH (2006) Effect of chlorpyrifos-methyl on steroid and thyroid hormones in rat F0- and F1-generations. *Toxicolog* 220(2-3):189-202.
- * Jia L, Wong H, Wang Y, Garza M, Weitman SD (2002) Carbendazim: disposition, cellular permeability, metabolite identification, and pharmacokinetic comparison with its nanoparticle. *J Pharmaceut Sci* 92(1):161-172.
- * Jin Y, Chen R, Wang L, Liu J, Yang Y, Zhou C, Liu W, Fu Z (2011) Effects of metolachlor on transcription of thyroid system-related genes in juvenile and adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Gen Comp Endocrinol*. 170(3):487-93.
- * Jin Y, Wang L, Ruan M, Liu J, Yang Y, Zhou C, Xu B, Fu Z (2011) Cypermethrin exposure during puberty induces oxidative stress and endocrine disruption in male mice. *Chemosphere*. 84(1):124-30.
- * Juliet S, Mandal TK, Mal B, Chowdhury A, Bhattacharyya A, Chakraborty AK (1998) Metabolic Study of Isoproturon in Goats Following a Single Oral Administration: Toxicokinetics and Recovery. *J Agric Food Chem*. 46(1):178-183.
- * Kackar R, Srivastava MK, Raizada RB (1997) Studies on rat thyroid after oral administration of mancozeb: morphological and biochemical evaluations. *J Appl Toxicol* 17(6):369-75.
- * Kackar R, Srivastava MK, Raizada RB (1997) Induction of gonadal toxicity to male rats after chronic exposure to mancozeb. *Ind Health* 35(1):104-11.
- * Kakko, I., Toimela, T., and Tahti, H. (2003). The synaptosomal membrane bound ATPase as a target for the neurotoxic effects of pyrethroids, permethrin and cypermethrin. *Chemosphere* 51, 475.
- * Kakko, I., Toimela, T., and Tahti, H. (2004). The toxicity of pyrethroid compounds in neural cell cultures studied with total ATP, mitochondrial enzyme activity and microscopic photographing. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 15, 95.
- * Kang IH, Kim HS, Shin JH, Kim TS, Moon HJ, Kim IY, Choi KS, Kil KS, Park YI, Dong MS, Han SY (2004) Comparison of anti-androgenic activity of flutamide, vinclozolin, procymidone, linuron, and p, p'-DDE in rodent 10-day Hershberger assay. *Toxicology* 199(2-3):145-59.
- * Kim IY, Shin JH, Kim HS, Lee SJ, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Choi KS, Moon A, Han SY (2004) Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using in vitro combination assays. *J Reprod Dev*. 50(2):245-55.
- * Kissel JC, Curl CL, Kedan G, Lu C, Griffith W, Barr DB, Needham LL, Fenske RA (2005) Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple daily urine samples collected from preschool children in Washington State. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 15(2):164-71.
- * Kivistö H (1993) TTCA measurements in biomonitoring of low-level exposure to carbon disulphide. *Int Arch Occup Environ Health* 73: 263-269.
- * Kjerstad MB, Taxvig C, Nellemann C, Vinggaard AM, Andersen HR (2010) Endocrine disrupting effects in vitro of conazole antifungals used as pesticides and pharmaceuticals. *Reprod Toxicol*. 30(4):573-82.
- * Kobal S, Cebulj-Kadunc N, Cestnik V (2000) Serum T3 and T4 concentrations in the adult rats treated with herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Pflugers Arch* 440(5 Suppl):R171-2.
- * Koç ND, Kayhan FE, Sesal C, Muşlu MN (2009) Dose-dependent effects of endosulfan and malathion on adult Wistar albino rat ovaries. *Pak J Biol Sci* 12(6):498-503.
- * Krechniak and Kosowska (1986) The fate of 14C-carbendazim in rat. *Xenobiotica* 16(9):809-815.
- Kurtio, P & K. Savolainen (1990) Ethylenethiourea in air and in urine as an indicator of exposure to ethylenebisdithiocarbamates. *Scand. J. Work Environ. Health* 16: 203-207.
- * Kumar S, Gautam AK, Agarwal KR, Shah BA, Saiyad HN (2004) Demonstration of sperm head shape abnormality and clastogenic potential of cypermethrin. *J Environ Biol*. 25(2):187-90.

- * Landrigan, P.J., Claudio, L., Markowitz, S.B., Berkowitz, G.S., Brenner, B.L., Romero, H., Wetmur, J.G., Matte, T.D., Gore, A.C., Godbold, J.H. & M.S. Wolff (1999) Pesticides and inner-city children: exposures, risks and prevention. *Environmental Health Perspectives* 107(3): 431-437.
- * Laville N, Balaguer P, Brion F, Hinfray N, Casellas C, Porcher JM, Aït-Aïssa S (2006) Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. *Toxicology* 228(1):98-108.
- * Laws SC, Hotchkiss M, Ferrell J, Jayaraman S, Mills L, Modic W, Tinfo N, Fraites M, Stoker T, Cooper R (2009) Chlorotriazine herbicides and metabolites activate an ACTH-dependent release of corticosterone in male Wistar rats. *Toxicol Sci* 112(1):78-87.
- * Le Couteur, D.G., McLean, A.J., Taylor, M.C., Woodham, B.L. & P.G. Board (1999) Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed. Pharmacother.* 53: 122-130.
- * Lindh CH, Littorin M, Amilon A, Jönsson BA (2008) Analysis of phenoxyacetic acid herbicides as biomarkers in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 22(2):143-50.
- * Liu S, Chang J, Zhao Y, Zhu G (2011) Changes of thyroid hormone levels and related gene expression in zebrafish on early life stage exposure to triadimefon. *Environ Toxicol Pharmacol* 32(3):472-7.
- * Lu C, Toepel K, Irish R, Fenske RA, Barr DB, Bravo R (2006) Organic diets significantly lower children's dietary exposure to organophosphorus pesticides. *Environ Health Perspect* 114(2):260-3.
- * Luini AG, Axelrod J (1985) Inhibitors of the cytochrome P-450 enzymes block the secretagogue-induced release of corticotropin in mouse pituitary tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Feb;82(4):1012-4.
- * Mahjoubi-Samet A, Hamadi F, Soussia L, Fadhel G, Zeghal N (2005) Dimethoate effects on thyroid function in suckling rats. *Ann Endocrinol (Paris)* 66(2 Pt 1):96-104.
- * Matveeva, E. G., Shan, G., Kennedy, I. M., Gee, S. J., Stoutamire, D. W., and Hammock, B. D. (2001). Homogeneous fluoroimmunoassay of a pyrethroid metabolite in urine. *Analytica Chimica Acta* 444, 103.
- * McIntyre BS, Barlow NJ, Wallace DG, Maness SC, Gaido KW, Foster PM (2000) Effects of in utero exposure to linuron on androgen-dependent reproductive development in the male Crl:CD(SD)BR rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 167(2):87-99.
- * Meeker JD, Barr DB, Hauser R (2008) Human semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary metabolites of pyrethroid insecticides. *Human Reproduction* 23(8):1932-1940.
- * Meeker JD, Barr DB, Hauser R (2009) Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men. *Reprod Toxicol* 27(2): 155-160.
- * Mercadante R, Polledri E, Giavini E, Menegola E, Bertazzi PA, Fustinoni S (2012) Terbutylazine in hair as a biomarker of exposure. *Toxicol Lett.* 210(2):169-73.
- * MIRA (2010) Milieu- en natuurrapport Vlaanderen, Achtergronddocument 2010, Verspreiding van bestrijdingsmiddelen, Peeters B., Spanoghe P., Steurbaut W., Theuns I., De Cooman W., De Wulf E., Eppinger R., D'hont D., Vanhille A., Huysmans A., Geeraerts C. Belpaire C., den Hond E., Vlaamse Milieumaatschappij, www.milieurapport.be
- * Mishra VK, Srivastava MK, Raizada RB (1998) Testicular toxicity in rat to repeated oral administration of tetramethylthiuram disulfide (Thiram). *Indian J Exp Biol.* 1998 Apr;36(4):390-4.
- * Montesano, M A; Kuklenyik, P; Whitehead, R D Jr; Jayatilaka, N K; Needham, L L; Barr, D B (2008) Quantification of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid in Human Urine Using High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Epidemiology* 19(6) abstract book ISEE Californië 2008.
- * Morgan MK, Stout DM, Jones PA, Barr DB (2008) An observational study of the potential for human exposures to pet-borne diazinon residues following lawn applications. *Environ Res* 107(3):336-42.
- * Motojyuku M, Saito T, Akieda K, Otsuka H, Yamamoto I, Inokuchi S (2008) Determination of glyphosate, glyphosate metabolites, and glufosinate in human serum by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatography B* 875:509-514.

- * Navalón A, Prieto A, Araujo L, Vílchez JL (2002) Determination of oxadiazon residues by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2002 Feb 8;946(1-2):239-45.
- * Navarro S, Vela N, Giménez MJ, Navarro G (2004) Persistence of four s-triazine herbicides in river, sea and groundwater samples exposed to sunlight and darkness under laboratory conditions. *Sci Total Environ*. 329(1-3):87-97.
- * NHANES (2009) Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals
- * Nofziger en Wu (2011) First order degradation of pesticides in theory.
- * Nolan, R.J. et al. (1984) Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 73: 8-15.
- * Norrgran J, Bravo R, Bishop AM, Restrepo P, Whitehead RD, Needham LL, Barr DB (2006) Quantification of six herbicide metabolites in human urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 830(2):185-95.
- * NPIC (2010) National Pesticide Information Center <http://npic.orst.edu>
- * Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C, Overstreet JW; Study for Future Families Research Group (2003) Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect* 111(12):1478-1484.
- * Okamura A, Kamijima M, Ohtani K, Yamanoshita O, Nakamura D, Ito Y, Miyata M, Ueyama J, Suzuki T, Imai R, Takagi K, Nakajima T (2009) Broken sperm, cytoplasmic droplets and reduced sperm motility are principal markers of decreased sperm quality due to organophosphorus pesticides in rats. *J Occup Health* 51(6):478-87.
- * Olsson AO, Nguyen JV, Sadowski MA, Barr DB (2003) A liquid chromatograph-electrospray ionization tandem mass spectrometry method for quantification of specific organophosphorus pesticide biomarkers in human urine. *Anal Bioanal Chem* 376(6):808-15.
- * Padington, C., Lasley, B.L., Chistiani, D.C., Ryan, L.M. & X. Xu (1998) Reproductive hormone profile among pesticide factory workers. *Journal of Occupational & Environmental Medicine* 40(12): 1038-1047.
- * Pauluhn, J. (1999). Hazard identification and risk assessment of pyrethroids in the indoor environment. *Toxicology Letters* 107, 193.
- * Pennanen, S., Liesivuori, J., Makkonen, S., Lankia, O. & V. Turunen (2005) Kinetics of mancozeb metabolism among occupationally exposed potato farmers after mancozeb applications in Finland. *Toxicology Letters* 158S: S1-S258.
- * Perera, F.P., Rauh, V., Tsai, W.-Y., Kinney, P., Carmann, D., Barr, D., Bernert, T., Garfinkel, R., Tu, Y.-H., Diaz, D., Dietrich, J. & R. M. Whyatt (2003) Effects of transplacental exposure to environmental pollutants on birth outcomes in a multiethnic population. *Environmental Health Perspectives* 111(2): 201-205.
- * Pourkhalili N, Pournourmohammadi S, Rahimi F, Vosough-Ghanbari S, Baeeri M, Ostad SN, Abdollahi M (2009) Comparative effects of calcium channel blockers, autonomic nervous system blockers, and free radical scavengers on diazinon-induced hyposecretion of insulin from isolated islets of Langerhans in rats. *Arch Hig Rada Toksikol* 60(2):157-64.
- * Rajeswary S, Kumaran B, Ilangoan R, Yuvaraj S, Sridhar M, Venkataraman P, Srinivasan N, Aruldas MM (2007) Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reprod Toxicol* 24(3-4):371-80
- * Recio, R., Ocampo-Gómez, G., Morán-Martínez, J., Borja-Aburto, V., López-Cervantes, M., Uribe, M., Torres-Sánchez, L. & M.E. Cebrián (2005) Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. *Environmental Health Perspectives* 113(9): 1160-1163.
- * Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N, Seralini GE (2005) Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environ Health Perspect* 113(6):716-20.
- * Rockett JC, Narotsky MG, Thompson KE, Thillainadarajah I, Blystone CR, Goetz AK, Ren H, Best DS, Murrell RN, Nichols HP, Schmid JE, Wolf DC, Dix DJ (2006) Effect of conazole fungicides on reproductive development in the female rat. *Reprod Toxicol* 22(4):647-58.

- * Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Ariano E, Alegakis A, Bogni M, Brambilla G, De Paschale G, Firmi A, Minoia C, Micoli G, Savi S, Sottani C, Somaruga C, Turci R, Vellere F, Tsatsakis A, Colosio C (2012) Farmers' exposure to herbicides in North Italy: Assessment under real-life conditions in small-size rice and corn farms. *Toxicol Lett.* 210(2):189-97.
- * Rudel RA, Camann DE, Spengler JD, Korn LR, Brody JG (2003) Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environ Sci Technol* 37(20):4543-53.
- * Schreinemachers MD (2010) Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994. *Environ Health.* 2010 Feb 26;9:11.
- * Romano RM, Romano MA, Bernardi MM, Furtado PV, Oliveira CA (2010) Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Arch Toxicol* 84(4):309-17.
- * Romano MA, Romano RM, Santos LD, Wisniewski P, Campos DA, de Souza PB, Viau P, Bernardi MM, Nunes MT, de Oliveira CA (2012) Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Arch Toxicol* 86(4):663-73.
- * Rosales-Conrado N, León-González ME, Pérez-Arribas LV, Polo-Díez LM (2008) Multiresidue determination of chlorophenoxy acid herbicides in human urine samples by use of solid-phase extraction and capillary LC-UV detection. *Anal Bioanal Chem.* 390(2):759-68.
- * Sadurska B, Boguszewski B (1993) Changes in lipoprotein lipase activity and plasma liver lipids in thiram intoxicated rats. *Acta Biochim Pol.* 1993;40(4):563-7.
- * Saito T, Aoki H, Namera A, Oikawa H, Miyazaki S, Nakamoto A, Inokuchi S (2011) Mix-mode TiO-C18 monolith spin column extraction and GC-MS for the simultaneous assay of organophosphorus compounds and glufosinate, and glyphosate in human serum and urine. *Anal Sci.* 2011;27(10):999-1005.
- * Sanderson JT, Seinen W, Giesy JP, van den Berg M (2000) 2-Chloro-s-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity? *Toxicol Sci* 54(1):121-7.
- * Sarabia L, Maurer I, Bustos-Obregón E. Melatonin prevents damage elicited by the organophosphorous pesticide diazinon on the mouse testis. *Ecotoxicol Environ Saf* 72(3):938-42.
- * Saradha B, Vaithinathan S, Mathur PP (2007) Single exposure to low dose of lindane causes transient decrease in testicular steroidogenesis in adult male Wistar rats. *Toxicology* 244(2-3):190-7.
- * Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G, Wuttke W (2005) Effects of bisphenol-A (BPA), dibutylphthalate (DBP), benzophenone-2 (BP2), procymidone (Proc), and linurone (Lin) on fat tissue, a variety of hormones and metabolic parameters: a 3 months comparison with effects of estradiol (E2) in ovariectomized (ovx) rats. *Toxicology* 213(1-2):13-24.
- * Sharma P, Singh R (2010) Protective role of curcumin on lindane induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Bull Environ Contam Toxicol* 84(4):378-84.
- * Simon P, Nicot T (1993) Automated column-switching high-performance liquid chromatography for the determination of 2-thiothiazolidine-4-carboxylic acid in urine. *J Chromatogr* 620(1): 47-53.
- * Stoker TE, Goldman JM, Cooper RL (1993) The dithiocarbamate fungicide thiram disrupts the hormonal control of ovulation in the female rat. *Reprod Toxicol* 7(3):211-8.
- * Straube, E., Straube, W., Krüger, E., Bradatsch, M., Jacob-Meisel, M. & H.-J. Rose (1999) Disruption of male sex hormones with regard to pesticides: pathophysiological and regulatory aspects. *Toxicology Letters* 107: 255-231.
- * Stürtz N, Jahn GA, Deis RP, Rettori V, Duffard RO, Evangelista de Duffard AM (2010) Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on milk transfer to the litter and prolactin release in lactating rats. *Toxicology* 271(1-2):13-20.
- * Sun H, Xu XL, Xu LC, Song L, Hong X, Chen JF, Cui LB, Wang XR (2007) Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay. *Chemosphere.* 66(3):474-9.

- * Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobni EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C, Overstreet JW; Study for Future Families Research Group (2003) Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. *Environ Health Perspect* 111(12):1478-1484.
- * Taxvig C, Vinggaard AM, Hass U, Axelstad S, Metzdorff S, Nellemann C (2008) Endocrine-disrupting properties in vivo of widely used azole fungicides. *Int J Androl* 31:170-177.
- * Tejada M (2009) Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate+diflufenican herbicides. *Chemosphere* 76:365–373.
- * Thiel A, Guth S, Böhm S, Eisenbrand G (2011) Dicofol degradation to p,p'-dichlorobenzophenone - a potential antiandrogen. *Toxicology* 282(3):88-93.
- * Tomlin, C., editor (2003). *The Pesticide Manual*. BCPC, 7 Omni Business Centre, Omega Park, Alton, Hampshire, GU34 2QD, UK.
- * Turci R et al. (2006) Determination of dichloroanilines in human urine by gas chromatography/mass spectrometry: validation protocol and establishment of Reference Values in a population group living in central Italy, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20: 2621–2625.
- * Uzun FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y (2009) Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food Chem Toxicol* 47(8):1903-8.
- * Van Den Heuvel, R., Baeyens, W., Den Hond, E., Colles, A., Koppen, G. & G. Schoeters (2007) Biomerker metingen in mengstalen van Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma Milieu & Gezondheid (2002-2006). Vito-rapport 2007/TOX/R/022
- * Verma R, Mohanty B (2009) Early-life exposure to dimethoate-induced reproductive toxicity: evaluation of effects on pituitary-testicular axis of mice. *Toxicol Sci* 112(2):450-8.
- * Vinggaard AM, Breinholt V, Larsen JC (1999) Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro. *Food Addit Contam* 16(12):533-42.
- * Viswanath G, Chatterjee S, Dabral S, Nanguneri SR, Divya G, Roy P (2010) Anti-androgenic endocrine disrupting activities of chlorpyrifos and piperophos. *J Steroid Biochem Mol Biol* 120(1):22-9.
- * Vlaams Humaan Biomonitoringsprogramma 2007-2011: resultatenrapport deel referentiebiomonitoring (2010).
- * VMM (2012). Drinkwaterkwaliteit in detail bekeken: Kijk op pesticiden, De Vlaamse Milieu Maatschappij, 9p.
- * VMM (2012). Pesticiden in het grondwater in Vlaanderen. Vlaamse Milieu maatschappij.
- * VMM: <http://www.vmm.be/water/kwaliteit-oppervlaktewater/toestand-oppervlaktewater/fysisch-chemische-toestand/micropolluenten/pesticiden-in-oppervlaktewater>
- * Vonier PM, Crain DA, McLachlan JA, Guillelte LJ Jr, Arnold SF (1996) Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ Health Perspect* 104(12):1318-22.
- * Von Meyer, W.C. (1977) A study of liver and thyroid cancer mortality as related to areas of use of ethylene bisdithiocarbamate fungicides. Philadelphia, PA: Rohm and Haas Company.
- * Walker A (1974) A simulation model for prediction of herbicide persistence. *J Environ Qual* 3: 396-401.
- * Walsh LP, McCormick C, Martin C, Stocco DM (2000) Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect* 108(8):769-76.
- * Wessels D, Barr DB, Mendola P (2003) Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: implications for a longitudinal study of children's environmental health. *Environmental Health Perspect* 111(16):1939-1946.
- * WHO/IPCS (International Programme on Chemical Safety) (1984). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Environmental Health Criteria* 29.
- * WHO 1994. Glyphosate Environmental Health criteria No 159. Geneva, World Health Organization.
- * WHO (1996). Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace.
- * WHO 2005. WHO/SDE/WSH/03.04/97 Glyphosate and AMPA in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality.

- * Williams AL, Watson RE, DeSesso JM (2012) Developmental and reproductive outcomes in humans and animals after glyphosate exposure: a critical analysis. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 15(1):39-96.
- * Wilson VS, Lambright CR, Furr JR, Howdeshell KL, Earl Gray L Jr (2009) The herbicide linuron reduces testosterone production from the fetal rat testis during both in utero and in vitro exposures. *Toxicol Lett* 25;186(2):73-7
- * Wittke K et al, 2001, Determination of dichloroanilines in human urine by GC–MS, GC–MS–MS, and GC–ECD as markers of low-level pesticide exposure, *J. Chromatogr. B* 755: 215 –228.
- * Xie L, Thrippleton K, Irwin MA, Siemering GS, Mekebri A, Crane D, Berry K, Schlenk D (2005) Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using an rainbow trout vitellogenin assay. *Toxicol Sci* 87(2):391-8.
- * Yenjerla M, Cox C, Wilson L, Jordan MA (2009) Carbendazim inhibits cancer cell proliferation by suppressing microtubule dynamics. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009 Feb;328(2):390-8.
- * Yoshioka N, Asano M, Kuse A, Mitsuhashi T, Nagasaki Y, Ueno Y (2011) Rapid determination of glyphosate, glufosinate, bialaphos, and their major metabolites in serum by liquid chromatography-tandem mass spectrometry using hydrophilic interaction chromatography. *J Chromatogr A* 1218(23):3675-80.
- * Yu G, Guo Q, Xie L, Liu Y, Wang X (2009) Effects of subchronic exposure to carbendazim on spermatogenesis and fertility in male rats. *Toxicol Ind Health* 25(1):41-7.
- * Zorrilla LM, Gibson EK, Stoker TE (2010) The effects of simazine, a chlorotriazine herbicide, on pubertal development in the female Wistar rat. *Reprod Toxicol.* 2010 Jul;29(4):393-400.

REFERENTIES DATABANKEN

Databank residuegegevens, verkregen via het FAVV, contactpersoon Xavier Vanhuffel Xavier.vanhuffel@favv.be; Jean-Francois Schmit Jean-Francois.Schmit@afsca.fed.be; en Walter Vanormelingen WALTER.VANORMELINGEN@afsca.be

Databank hulpstoffen in gewasbeschermingsmiddelen, verkregen via Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, contactpersoon: Philippe Castelain Philippe.Castelain@iph.fgov.be

Databank verkoopsgegevens gewasbeschermingsmiddelen in 2010, verkregen via Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, contactpersoon: Trybou Maarten Maarten.Trybou@health.fgov.be en De Cock Anneke Anneke.DeCock@health.fgov.be

Databank gebruikt bestrijdingsmiddelen door steden en gemeenten, verkregen via het VMM, contactpersoon: Adelheid Vanhille, a.vanhille@vmm.be

Databank bestrijdingsmiddelen in oppervlaktewater, verkregen via het VMM, contactpersoon Ann Huysmans a.huysmans@vmm.be.

Databank Biociden gebruik 2010, verkregen via het Federale Overheidsdienst Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, contactpersoon Van Bol Vincent vincent.vanbol@sante.belgique.be

BIJLAGE I: INDELING BIOCIDEN

Overeenkomstig de Europese richtlijn (98/8/EG) werd in België een Koninklijk Besluit (22 mei 2003, BS 11.07.2003) ingevoerd die de regelgeving van het biocide-gebruik oplegt. Biociden worden ingedeeld volgens de aard van werking en volgens hun doel in vier hoofdgroepen en 23 productsoorten (PS). Hieronder wordt een kort overzicht gegeven van deze onderverdeling:

HOOFDGROEP 1: Ontsmettingsmiddelen en algemene biociden

- Productsoort 1: biociden voor menselijke hygiëne
- Productsoort 2: desinfecterende middelen voor privégebruik en voor de openbare gezondheidszorg (zwembaden, aquaria, bad- en ander water; luchtverversingssystemen; muren en vloeren in medische en andere instellingen, chemische toiletten, afvalwater, ziekenhuisafval, grond of andere substraten van speeltuinen).
- Productsoort 3: biociden voor veterinaire hygiënedoeleinden
- Productsoort 4: ontsmettingsmiddelen voor gebruik in de sector voeding en diervoeders, producten voor desinfectie van uitrusting en oppervlakken bij de productie, het vervoer, de opslag of consumptie van voedingsmiddelen.
- Productsoort 5: ontsmettingsmiddelen voor drinkwater

HOOFDGROEP 2: Conserveringsmiddelen

- Productsoort 6: conserveringsmiddelen in conserven
- Productsoort 7: filmconserveringsmiddelen (conservering van films en filmbeschermingslagen om aantasting door bacteriën tegen te gaan ter bescherming van de oorspronkelijke eigenschappen van verf, plastic, dichtingsproducten, zelfklevende wandbekleding, bindmiddelen, papier en kunstwerken).
- Productsoort 8: houtconserveringsmiddelen
- Productsoort 9: conserveringsmiddelen voor vezels, leer, rubber en gepolymeriseerde materialen
- Productsoort 10: conserveringsmiddelen voor metselwerk
- Productsoort 11: conserveringsmiddelen voor vloeistofkoelingssystemen
- Productsoort 12: slijmbestrijdingsmiddelen (tegengaan van slijmafzetting op materialen, uitrusting en constructies die in industriële processen gebruikt worden).
- Productsoort 13: conserveringsmiddelen voor metaalbewerkingsvloeistoffen

HOOFDGROEP 3: Plaaigbestrijding

- Productsoort 14: rodenticiden (bestrijding van muizen, ratten en andere knaagdieren).
- Productsoort 15: aviciden (bestrijding van vogels).
- Productsoort 16: mollusciciden (bestrijding van weekdieren).
- Productsoort 17: pisciciden (bestrijding van vis)
- Productsoort 18: insecticiden, acariciden en producten voor de bestrijding van andere geleedpotigen
- Productsoort 19: insectwerende en lokstoffen

HOOFDGROEP 4: Andere biociden

- Productsoort 20: conserveringsmiddelen voor voedingsmiddelen of diervoeders
- Productsoort 21: aangroeiwerende middelen, producten om de groei en afzetting van op schepen of andere in het water gebruikte constructies tegen te gaan.
- Productsoort 22: vloeistoffen voor balsemen en opzetten
- Productsoort 23: bestrijding van andere gewervelde dieren

Productsoort 18 is een zeer belangrijke groep, zowel in omvang als in risicogehalte. Deze groep wordt dan ook in de EU als op nationaal vlak als primordiaal beschouwd. Het is dan ook deze groep die vooral geïmponeerd wordt in de risicoanalyse van dit project. Gezien de grote analogie van de middelen behorend tot enerzijds deze groep en, anderzijds, de bestrijdingsmiddelen voor niet-landbouwkundig amateurgebruik op kamerplanten is het opportuun gebleken om ook deze laatste groep bestrijdingsmiddelen in deze studie op te nemen bij de beoordeling van de residentiële blootstellingrisico's van hun binnenhuisgebruik.

BIJLAGE II: MEETPROGRAMMA VMM

Een overzicht van de chemische stoffen opgenomen in de meetprogramma van de Vlaamse Milieu Maatschappij (VMM).

Chemische stof	Chemische stof	Chemische stof
1,2,3,4-Tetrachloorbenzeen	Chloridazon	Lenacil
1,2,3,5-Tetrachloorbenzeen	Heptachloorepoxyde (cis)	Lindaan
1,2,4,5-Tetrachloorbenzeen	Chloorpyrifos-ethyl	Linuron
2,4,5-Trichloorfenoxiazijnzuur	Chloortoluron	Malathion
2,4-Dichloorfenoxiazijnzuur	Cumafos	Metobromuron
op'Dichloordifenyldichloorethaan	Cyanazine	Metabenzthiazuron
op'Dichloordifenyldichlooretheen	Cyprodinil	MCPA
op'Dichloordifenyldichloorethaan	Dichlobenil	MCPB
Dichloorprop	Dichloorvos	MCPD
2,4-Dinitrofenol	Desethylatrazine	Metazachloor
2-Hydroxy-atrazine	Diflufenican	Metribuzin
pp'Dichloordifenyldichloorethaan	Hexachloorcyclohexaan, delta	Methiocarb
pp'Dichloordifenyldichlooretheen	Diazinon	Metolachloor
pp'Dichloordifenyldichloorethaan	Dicamba	Metoxuron
Endosulfan, alfa	Dieldrin	Mevinfos
Hexachloorcyclohexaan, alfa	Desisopropylatrazine	Monolinuron
Alachloor	Diuron	Methylbenzothiazole
Aldrin	Dimethoat	Methoxychloor
Aminomethyl phosphonic acid	4,6,-Dinitro-o-cresol	Oxadiazon
Atrazine	Endosulfan, sulfaat	Parathion-ethyl
Azinfos-methyl	Endrin	Pentachloorbenzeen
Azoxystrobin	Ethofumesate	Pirimicarb
2,6-Dichloorbenzamide	Fenitrothion	Propachloor
Endosulfan, beta	Fenthion	Simazine
Bentazone	Fluroxypyr	Chloordaan, trans
Hexachloorcyclohexaan, beta	Flufenacet	trans-Chloorfenvinfos
Bromoxynil	Glyfosaat	Tolclofos-methyl
Carbendazim	Hexachloorbenzeen	Telodrin
Chloorbromuron	Heptachloor	Trifluralin
Chloordaan, cis	Isodrin	Terbutylazine

BIJLAGE III: INFORMATIEBROCHURE DEELNEMERS

Optimaliseren van humane biomerkers voor prioritaire hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen

Informatiebrochure voor de deelnemers

Beste jongere, beste ouders,

De studie ***‘optimalisatie van humane biomerkers voor prioritaire hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen’*** is een nieuwe studie die werd opgestart in opdracht van de Vlaamse overheid, Departement Leefmilieu, Natuur en Energie. Het project wordt uitgevoerd door een team van ervaren onderzoekers van de Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO) en de Universiteit Gent. Zij willen de aanwezigheid van hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in uw lichaam onderzoeken. Dit soort onderzoek heet humane biomonitoring. Voor deze studie zijn we op zoek naar 12 jongeren (14-15 jaar) die in de fruitstreek wonen in de buurt van een landbouwgrond.

Waarover gaat het onderzoek?

De studie startte met de selectie van bestrijdingsmiddelen die veel gebruikt worden in Vlaanderen en daardoor ook in het menselijk lichaam kunnen terecht komen. De aandacht gaat uit naar bestrijdingsmiddelen die mogelijk een ongewenste invloed kunnen uitoefenen op één of meerdere hormonale systemen. Zijn deze meetbaar in bijvoorbeeld onze urine? Welke gehalten komen voor? Vier bestrijdingsmiddelen werden geselecteerd, namelijk glyfosaat, chloorpyrifos, mancozeb en linuron (meer informatie over deze stoffen vindt u terug in bijlage 1).

Aan 12 personen van 14 à 15 jaar oud zal gevraagd worden om deel te nemen aan de studie. De metingen van de biomerkers zullen gebeuren in de urine. Aan de deelnemers wordt een urinestaal gevraagd. Daarnaast wordt er gevraagd om een korte vragenlijst over levensstijl, woonomgeving en het gebruik van bestrijdingsmiddelen in te vullen. Deze vragenlijstgegevens helpen om de resultaten beter te interpreteren.

Wat wordt er precies van u verwacht?

Indien u besluit om deel te nemen aan de studie, vragen wij het volgende van u:

1. Een staal ochtendurine;
2. een korte vragenlijst in te vullen op de dag van de urinecollectie.

Al het materiaal hiervoor wordt bij u thuis afgeleverd; het urinestaal wordt bij u thuis terug opgehaald. Deelname aan de studie is volledig gratis. Als dank voor uw deelname, ontvangt u van ons twee filmtickets.

Wat gebeurt er met de resultaten van het onderzoek?

Als u dit wenst, ontvangt u uw persoonlijke resultaten. Alle gegevens worden vertrouwelijk behandeld conform de wet op de privacy. Dit betekent dat nergens in het onderzoek uw naam of adres vermeld wordt. Alle stalen en vragenlijsten zijn enkel beschikbaar voor medewerkers aan het onderzoek. De studie werd goedgekeurd door de Ethische Commissie van de Universiteit Antwerpen/Universitair Ziekenhuis Antwerpen.

Wilt u graag deelnemen of hebt u nog vragen?

Als u wil meewerken aan de studie, vragen wij u om contact op te nemen:

Melissa Paulussen (VITO)

Industriezone Vlasmeer 7

2400 Mol

014/33 51 07

014/33 51 64

melissa.paulussen@vito.be

Hoe gaat het dan verder?

Als u contact heeft opgenomen met ons, vragen wij u om uw adresgegevens en telefoonnummer. Daarna wordt er een afspraak gemaakt voor de urinecollectie; daarvoor ontvangt u van ons een recipiënt voor de urine en de vragenlijst. Daarnaast vragen wij u en uw ouders om een toestemmingsformulier te ondertekenen, en ontvangt u van ons twee filmtickets.

Bijlage 1: Welke bestrijdingsmiddelen worden gemeten en hoe komen ze in de mens terecht?



Glyfosaat

Glyfosaat is een veel gebruikte onkruidverdelger. Planten die met glyfosaat behandeld worden, sterven langzaam af over een periode van dagen tot weken. Het middel wordt verspreid over heel de plant, waardoor geen enkel deel van de plant overleeft. Veel gebruikte commerciële producten die glyfosaat bevatten zijn Roundup™ en Rodeo™. Het wordt vooral gebruikt in de teelt van erwten, bonen, tarwe, gerst, rogge, haver, grasland, weiland, gazons, grasvelden, onbeteelde landbouwgronden, en verharde en niet-verharde permanent onbeteelde terreinen. Glyfosaat wordt ook veelvuldig verkocht voor huis- en tuingebruik.



Chloorpyrifos

Chloorpyrifos is één van de meest gebruikte organofosfaat insecticiden. Deze insectenverdelger wordt in België vooral gebruikt voor de teelt van kolen, asperges en prei. Het wordt gebruikt op landbouwgewassen, in tuinen en ook in huis.



Linuron

Linuron is een onkruidverdelger die wordt opgenomen via de wortels. Het wordt in België gebruikt voor de bestrijding van onkruid in de graan- en fruitteelt en in verschillende groentegewassen. Linuron wordt veel gebruikt in ons land, en bestaat in verschillende commerciële producten.



Mancozeb

Mancozeb is een schimmelwerend product, dat wereldwijd gebruikt wordt in de landbouw. In België wordt het voornamelijk gebruikt in de fruitteelt, sierteelt, graanteelt, aardappelteelt, groenteteelt en graanteelt. Mancozeb wordt in ons land zeer veel gebruikt, het is de werkzame stof in verschillende commerciële producten.

Blootstelling aan deze producten is mogelijk door de voeding (consumeren van voedingsproducten met een residuegehalte en door het drinken van gecontamineerd water), door inademing en door contact met de huid en slijmvliezen.

BIJLAGE IV: VRAGENLIJST

Optimaliseren van biomerkers voor prioritaire hormoonverstorende bestrijdingsmiddelen in Vlaanderen: Vragenlijst bij de urinecollectie

In deze vragenlijst stellen we u enkele vragen die we nodig hebben om de metingen in uw urine te interpreteren. Het is belangrijk dat u deze vragenlijst invult op de dag van uw urinecollectie.

A. Urinecollectie

1. Hoe laat werd het urinestaal genomen?
2. Hoe laat was de laatste plasbeurt (huidige plasbeurt voor het urinestaal niet meegerekend)?

B. Algemeen

1. Datum invullen vragenlijst: / / (dag/maand/jaar)
2. Wat is uw geboortedatum? / / (dag/maand/jaar)
3. Wat is uw geslacht? ☐ man ☐ vrouw
4. Wat is uw lengte?cm
5. Wat is uw gewicht?kg
6. Hoe is uw algemene gezondheidstoestand?
☐ zeer goed
☐ goed
☐ redelijk
☐ slecht
☐ zeer slecht

7. Welke opleiding volg je momenteel:

- ☐ ASO
- ☐ TSO
- ☐ BSO
- ☐ KSO
- ☐ ander, verklaar nader.....

8. Wat is de hoogste school- of beroepsopleiding die jouw vader en moeder voltooiden?

	8.a Vader	8.b Moeder
Geen diploma		
Lager onderwijs		
Middelbaar: lager secundair onderwijs (ASO, TSO, KSO, BSO)		
Middelbaar: hoger secundair onderwijs (ASO, TSO, KSO of BSO)		
Hoger onderwijs buiten de universiteit (HOBu)		
Universiteit		
Ander, verklaar nader:.....		

9. Gebruikte u de afgelopen dagen geneesmiddelen of homeopathische middelen?

- ☐ ja ☐ nee

9.a. Indien ja, welke geneesmiddelen heeft u de afgelopen 14 dagen gebruikt?.....
.....

10. Heeft u de afgelopen 3 dagen gerookt? ☐ ja ☐ nee

10.a. Indien ja, hoeveel sigaretten heeft u de afgelopen 3 dagen gerookt?.....sigaretten

10.b. Hoeveel uren heeft u de afgelopen 3 dagen doorgebracht in een ruimte waar gerookt werd door uzelf of door anderen?
.....uren

C. Woonomgeving

1. Woont u landelijk of stedelijk? ☐ landelijk ☐ stedelijk

2. Woont u in de buurt van:

2.a. groententeelt ☐ ja ☐ nee

2.a1. Indien ja, op welke afstand hiervan woont u?

☐ minder dan 100m

☐ tussen 100 en 500m

☐ tussen 500 en 1000m

☐ meer dan 1000m

2.b. fruitteelt ☐ ja ☐ nee

2.b1. Indien ja, op welke afstand hiervan woont u?

☐ minder dan 100m

☐ tussen 100 en 500m

☐ tussen 500 en 1000m

☐ meer dan 1000m

2.c. een akker ☐ ja ☐ nee

2.c1. Indien ja, op welke afstand hiervan woont u?

☐ minder dan 100m

☐ tussen 100 en 500m

☐ tussen 500 en 1000m

☐ meer dan 1000m

2.d. een grasveld ☐ ja ☐ nee

2.d1. Indien ja, op welke afstand hiervan woont u?

☐ minder dan 100m

☐ tussen 100 en 500m

☐ tussen 500 en 1000m

☐ meer dan 1000m

3. Bent u de afgelopen dagen onrechtstreeks in contact geweest met pesticiden?

☐ ja ☐ nee

3.a. Indien ja, hoe?

D. Gebruik pesticiden

1. Heeft u de afgelopen dagen zelf pesticiden gebruikt in uw omgeving?

☐ ja ☐ nee

1.a. Indien ja, waar gebruikte u deze pesticiden?

☐ studie

☐ vakantiejob

☐ in huis

☐ in de tuin

☐ andere:

1.b. Indien ja, welk product/merk?

1.c. Indien ja, hoe lang is dit geleden?

2. Heeft iemand in uw gezin de afgelopen dagen pesticiden gebruikt in uw buitenhuis omgeving?

☐ ja ☐ nee

2.a. Indien ja, waarvoor?

☐ groententeelt

☐ fruitteelt

☐ siertuin

☐ gazon

☐ oprit

☐ tegen vlooien

☐ andere:

2.b. Indien ja, welk product/merk?

2.c. Indien ja, hoe lang is dit geleden?

3. Heeft iemand van uw gezin de afgelopen dagen één van de volgende producten gebruikt in huis?

3.a. Anti-muggenmelk (bv. doosje in stopcontact, muggenmelk...)

☐ ja ☐ nee

3.a1. Indien ja, welk product/merk?.....

3.b. Andere insectenverdelgers (bv. antivliegenstrip, antivliegenspuitbus, producten tegen luizen op kamerplanten, ...)

☐ ja ☐ nee

3.b1. Indien ja, welk product/merk?.....

3.c. Schimmelwerend product

☐ ja ☐ nee

3.c1. Indien ja, welk product/merk?.....

3.d. Anti-vlooiemiddel voor huisdieren (poeder, druppels, vlooiensband)

☐ ja ☐ nee

3.d1. Indien ja, welk product/merk?.....

3.e. Mottenballen

☐ ja ☐ nee

3.e1. Indien ja, welk product/merk?.....

4. Heeft uw gezin een moestuin waar groenten gekweekt worden voor eigen consumptie?

☐ ja ☐ nee

4.a. Indien ja, gebruikt u hier sproeistoffen?

☐ ja ☐ nee

4.b. Indien ja, welk product/merk gebruikt u dan?

.....

4.c. Indien ja, hoe vaak gebruikt u deze sproeistoffen?

.....

4.d. Indien ja, hoe lang is dit geleden?

.....

4.e. Eet u zelf van deze groenten?

☐ ja ☐ nee

4.f. Indien ja, hoe vaak eet u deze zelfgekweekte groenten?

- ☐ 1 maal per maand
- ☐ 1 maal per week
- ☐ 1 maal per dag
- ☐ meerdere keren per dag

5. Heeft uw gezin fruitbomen waar fruit gekweekt wordt voor eigen consumptie?

- ☐ ja ☐ nee

5.a. Indien ja, gebruikt u hier sproeistoffen?

- ☐ ja ☐ nee

5.b. Indien ja, welk product/merk gebruikt u dan?

.....

5.c. Indien ja, hoe vaak gebruikt u deze sproeistoffen?

.....

5.d. Indien ja, hoe lang is dit geleden?

.....

5.e. Eet u zelf van dit fruit?

- ☐ ja ☐ nee

5.f. Indien ja, hoe vaak eet u dit zelfgekweekt fruit?

- ☐ 1 maal per maand
- ☐ 1 maal per week
- ☐ 1 maal per dag
- ☐ meerdere keren per dag

EINDE

Hartelijk dank voor het invullen van deze vragenlijst!