



Onderzoeksproject:

Associatie tussen milieublootstelling en fertiliteit - case-control studie bij vrouwelijke subfertiliteitspatiënten

Aanvrager:

Prof. dr. Herman Tournaye
Centrum voor Reproductieve Geneeskunde
VUB
Laarbeeklaan 103
1090 Brussel
Tel. 02 477 66 12
E-mail: herman.tournaye@vub.ac.be

Mede-aanvragers:

Prof. dr. Thomas D'Hooghe
Leuven Universitair Fertiliteitscentrum
UZ Gasthuisberg
Herestraat 49
3000 Leuven
Tel. 016 34 36 24
E-mail: thomas.dhooghe@uz.kuleuven.ac.be

Prof. dr. Petra De Sutter
Afd. Reproductieve Geneeskunde
UGent
De Pintelaan 185
9000 Gent
Tel. 09 332 37 50
E-mail: petra.desutter@ugent.be

Prof. Dr. Jean-Marc Kaufman
Departement Endocrinologie
UGent
De Pintelaan 185
9000 Gent
Tel. 09 332 21 30
E-mail: jean.kaufman@ugent.be

Studie-coördinatie:

Dr. Elly Den Hond
Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO), Dienst Milieurisico en Gezondheid
Boeretang 200
2400 Mol
Tel. 014 33 52 28
E-mail: elly.denhond@vito.be

INHOUD

1	Inleiding	3
2	Partners	4
3	Doelstelling.....	5
4	Study protocol	6
4.1	Inclusiecriteria.....	6
4.1.1	Selectie van cases	6
4.1.2	Selectie van controles.....	6
4.1.3	Rekrutering van deelnemers.....	7
4.2	Selectie van blootstellingsmerkers	8
4.2.1	Keuze van biomerkers.....	8
4.2.2	Steekproefberekeningen	9
4.3	Gedetailleerde beschrijving van de studie.....	10
4.3.1	Informatie aan de deelnemer en geïnformeerde toestemming	10
4.3.2	Anamnese, klinisch onderzoek	10
4.3.3	Laparoscopie	10
4.3.4	Analyse van hormonen in serum	11
4.3.5	Analyse van blootstellingsmerkers	11
4.3.6	Vragenlijsten	13
4.3.7	Data management	13
4.3.8	Statistisch analyse plan	13
4.4	Communicatie van de resultaten.....	15
4.4.1	Communicatie van de individuele resultaten	15
4.4.2	Onderzoeksrapport	15
5	Referenties	17
	Appendix 1: Geïnformeerd toestemmingsformulier	19
	Appendix 2: Registratie van data van laparoscopie	23
	Appendix 3: Gedetailleerde beschrijving van de metingen	25
	Appendix 4: Schema voor bloed- en urinecollectie	27
	Appendix 5: Vragenlijst	29

1 INLEIDING

In 1985 publiceerden Hull et al. (Hull et al. 1985) de resultaten van een epidemiologische studie bij 708 koppels in Engeland en concludeerden dat één op zes koppels ooit gespecialiseerde hulp nodig had omwille van fertiliteitsproblemen. Deze bevindingen werden bevestigd door twee prospectieve studies in Nederland, waarbij de cumulatieve incidentie voor subfertiliteit bij vrouwen tussen de 15 en 45 jaar oud werd geschat op 10,4% (Beurskens et al. 1995) en 9,9% (Snick et al. 1997).

Algemeen wordt aangenomen dat de verminderde vruchtbaarheid in geïndustrialiseerde landen deels is toe te schrijven aan sociale en economische evoluties, zoals de toegenomen carrièremogelijkheden voor de vrouw, uitgestelde kindwens, verminderde kindwens (daling van ideale gezinsgrootte), minder stabiele relaties, enz... Daarnaast is er echter ook evidentie voor een toename van vruchtbaarheidsproblemen.

In onze moderne maatschappij komen we - gewild of ongewild - meer en meer in contact met mengsels van chemische en natuurlijke producten met potentiële effecten op de gezondheid van de mens. Naast immunologische, genotoxische en neurologische effecten worden vaak endocriene effecten toegeschreven aan polluenten in onze omgeving. Begin jaren '90 werd het begrip van de 'endocriene verstoorders' gelanceerd. Wetenschappers (Sharpe & Skakkebaek, 1993; Toppari et al., 1996) suggereerden dat polluenten met een oestrogene, anti-oestrogene of anti-androgene werking de natuurlijke hormonale balans verstoren. Prenatale blootstelling aan endocriene verstoorders werd in verband gebracht met het 'Testicular Dysgenesis Syndrome' (TDS), namelijk een verminderde sperma-kwaliteit, een toegenomen incidentie van testiskanker, cryptorchidie (niet-ingedaalde testis) en hypospadias.

Het onderzoek richt zich vooral op mannelijke subfertiliteit, enerzijds omdat vele polluenten oestrogene eigenschappen bezitten (en dus vooral adversieve effecten zullen hebben bij de man), en anderzijds omdat er veel aandacht wordt besteed aan de verminderde spermakwaliteit, die misschien niet altijd eenvoudig te meten is, maar wel zeer emotioneel beladen en begrijpbaar is voor het algemene publiek. De relatie tussen milieuvervuiling en vrouwelijke fertiliteit is meestal toegespitst op het voorkomen van miskramen (Korrick et al., 2001; Longnecker et al., 2005), en soms ook op specifieke vormen van subfertiliteit zoals endometriose (Pauwels et al., 2001; Fierens et al., 2003; Porpora et al., 2006)

Biomonitoring is een techniek om humane blootstelling aan chemische stoffen uit de omgeving te meten (Metcalf & Orloff, 2004; Calafat et al., 2006). Indien er polluenten worden gemeten bij de mens - bijvoorbeeld in bloed, urine, haar, nagels, speeksel, moedermelk - spreken we van biomerkers van blootstelling. Indien deze blootstellingsmerkers gerelateerd worden aan specifieke gezondheidseffecten, kunnen dosis-effect relaties bestudeerd worden. In deze studie willen we de associatie onderzoeken tussen subfertiliteit en blootstelling aan endocriene verstoorders.

In twee case-control studies - één bij mannen en één bij vrouwen - zal subfertiliteit gelinkt worden met blootstelling aan milieuvervuilende stoffen via ons dagelijks leven, zowel van pollutanten die historisch in onze omgeving aanwezig zijn, als van 'nieuwere' contaminanten in onze omgeving. De historische pollutanten zoals PCBs, dioxines, pesticiden en zware metalen hebben zich sinds de jaren '70 geaccumuleerd in onze omgeving en zijn momenteel nog steeds in relevante hoeveelheden aanwezig in het Vlaamse milieu (Nawrot et al., 2002; Koppen et al., 2002). De nieuwere pollutanten zoals ftalaten, bisphenol A of perfluorcomponenten krijgen in de wetenschappelijke literatuur toenemende aandacht omdat ze massaal aanwezig zijn in zeer diverse producten zoals kleding, verpakkingsmateriaal, elektronisch materiaal, verzorgingsproducten, enz... Van al deze stoffen zijn hormoonversturende eigenschappen bekend uit proefdieronderzoek en *in vitro* onderzoek, maar de relevantie bij de mens en bij de huidige blootstellingsniveau's is vaak nog onzeker. Dioxines zijn goed gekend voor hun anti-oestrogene werking; PCB's kunnen zowel oestrogene als anti-oestrogene effecten hebben, afhankelijk van het congeener (Connor, 1997); ftalaten zijn mogelijk anti-androgeen (Latini et al, 2004); van bisphenol A zijn estrogene activiteiten aangetoond (Maffini et al, 2006); bij proefdieren werden een gestoorde ontwikkeling en verstoorde hormoonconcentraties aangetoond na blootstelling aan perfluorocomponenten (Lau et al, 2003; Austin et al, 2003); cadmium (Schoeters et al, 2006) en lood (Pant et al, 2003) werden in verband gebracht met verminderde spermakwaliteit. Al deze chemische stoffen zijn in verband gebracht met verminderde vruchtbaarheid bij proefdieren of bij de mens.

In dit document worden de design en de procedures voor de case-control studie bij vrouwelijke fertiliteitspatiënten besproken.

2 PARTNERS

Deze studie wordt uitgevoerd door 3 Vlaamse fertiliteitscentra:

- Leuven Universitair Fertiliteitscentrum, K.U. Leuven: Prof. dr. Thomas D'Hooghe, Myriam Welkenhuysen;
- Universiteit Gent: afdeling andrologie: Prof. dr. Jean-Marc Kaufman, Dr. Ahmed Mahmoud; Afd. Reproductieve Geneeskunde: Prof. dr. Petra De Sutter;
- Centrum voor Reproductieve Geneeskunde, VUB: Prof. dr. Herman Tournaye; Dr. Sc. Greta Verheyen, Prof. dr. Josiane Van der Elst.

De andere partners zijn betrokken bij de coördinatie van het veldwerk, de toxicologische analyses, het datamanagement, de statistische analyse en de communicatie van de resultaten:

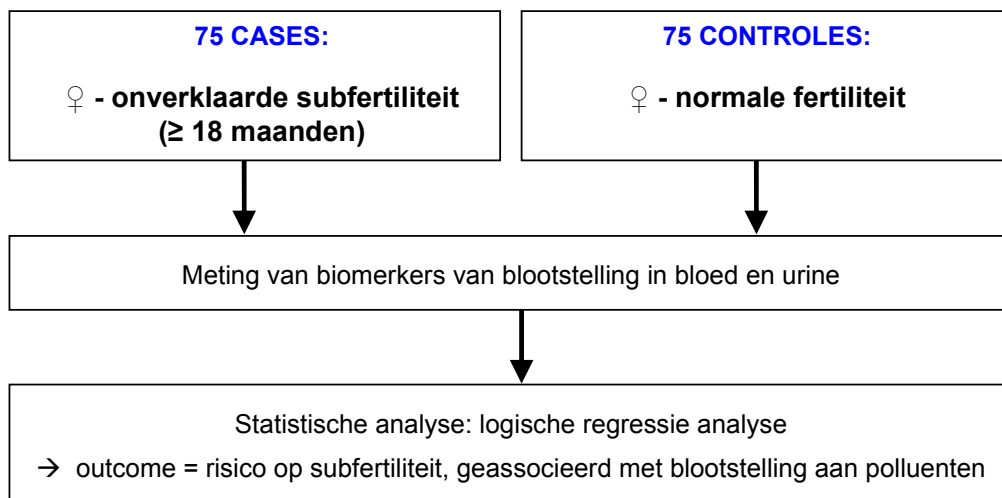
- Expertise Centrum Milieutoxicologie, Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO): Dr. Elly Den Hond, Prof Greet Schoeters;
- Maatschappelijke Gezondheidszorg, K.U. Leuven: Dr. Tim Nawrot;

- Vakgroep Radiotherapie en Kerngeneeskunde, UGent: Prof. dr. Nik Van Larebeke;
- Vakgroep Analytische en Milieuchemie (ANCH), VUB: Prof. dr. Willy Baeyens.

Deze studie maakt deel uit van het onderzoeksprogramma van het Steunpunt Milieu en Gezondheid, 2007-2011 (Flemish Center of Expertise on Environment and Health). Het Steunpunt is een consortium van wetenschappers van alle universiteiten van Vlaanderen en van een aantal onderzoeksinstituten. Prof. dr. Willy Baeyens (VUB) is de coördinator van de studie; Prof. dr. Nik Van Larebeke (UGent) is de woordvoerder. Het Steunpunt werd gevormd in opdracht van de Vlaamse Regering en staat onder de bevoegdheid van het departement Economie, Wetenschap en Innovatie (EWI); het departement Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE) en het departement Welzijn, Volksgezondheid en Gezin (WVG).

3 DOELSTELLING

Het doel van deze studie is om na te gaan of er een verband is tussen de blootstelling aan endocriene verstoorders en het voorkomen van vrouwelijke subfertiliteit. Subfertiliteit wordt in deze studie gedefinieerd als onverklaarde subfertiliteit gedurende meer dan 18 maanden. In een case-control setting wordt bestudeerd of de niveaus van biomerkers van blootstelling verschillend zijn in vrouwen met onverklaarde subfertiliteit in vergelijking met gezonde controles.



4 STUDY PROTOCOL

4.1 Inclusiecriteria

Voor alle deelnemers in de studie zijn de inclusiecriteria:

- Jonger zijn dan 36 jaar;
- Nooit gerookt of minstens 1 jaar gestopt met roken;
- Primaire zwangerschap (GO), d.w.z. nooit zwanger geweest (geen bewezen zwangerschap door vaststellen van vruchtzak, curettage, echografie of overtuigend verhaal van patiënt), tenzij biochemisch;
- Voldoen aan selectiecriteria voor case of selectiecriteria voor control op basis van fertiliteit;
- 'Informed consent' geven;
- Nederlandstalige vragenlijst kunnen invullen (N.B. nationaliteit is geen inclusie criterium; buitenlandse patiënten worden dus ook toegelaten op voorwaarde dat ze Nederlands spreken).

4.1.1 Selectie van cases

Als 'cases' worden vrouwen met onverklaarde subfertiliteit geselecteerd, namelijk:

- vrouwen met een voorgeschiedenis van minstens 18 maanden subfertiliteit;
- met een regelmatige menstruele cyclus, i.e. frequentie van menstruatie om de 24 tot 38 dagen, met een cyclus-tot-cyclus variatie van 2 tot maximum 20 dagen tijdens de laatste 12 maanden (Fraser, Critchley et al. 2007);
- met een normaal klinisch onderzoek;
- waarbij een iatrogene of infectieuze oorzaak van subfertiliteit werd uitgesloten;
- en waarvan een normale spermakwaliteit bij de partner is aangetoond.

Bij alle cases moeten gegevens beschikbaar zijn van een goed gedocumenteerde laparoscopie, uitgevoerd in de voorbije 2 jaar. Op basis van de laparoscopie kan men pelvische pathologie uitsluiten en normale baarmoeder en open eileiders bevestigen. Patiënten met endometriose stadium II of hoger worden uitgesloten; patiënten zonder endometriose of met endometriose, stadium I zijn toegelaten om de vergelijkbaarheid met de controles te (waar geen gedocumenteerde laparoscopie beschikbaar is) toe te laten.

4.1.2 Selectie van controles

Als controles worden vrouwen met normale fertiliteit, regelmatige menstruele cyclus en een normaal klinisch onderzoek gerekruteerd. Vrouwen zonder vruchtbaarheidsprobleem die de fertilitetskliniek raadplegen - hetzij vrouwen van koppels waarbij infertiliteit bij de man werd vastgesteld, hetzij vrouwen zonder mannelijke partner (alleenstaande vrouwen of vrouwen van lesbische koppels) - komen in aanmerking als controle.

Iedere vrouw zonder vruchtbaarheidsproblemen die start met IVF/ICSI, die voldoet aan de inclusiecriteria (<36 jaar, niet-roker en primaire zwangerschap) en die voldoet aan een aantal klinische criteria komt in principe in aanmerking. Deze criteria zijn:

- FSH > 10
- regelmatige menstruele cyclus, i.e. frequentie van menstruatie om de 24 tot 38 dagen, met een cyclus-tot-cyclus variatie van 2 tot maximum 20 dagen tijdens de laatste 12 maanden (Fraser, Critchley et al. 2007);
- 2 overia;
- normale echografie.

Voor vrouwen van heterokoppels moet bijkomend een duidelijke subfertiliteit bij de man worden vastgesteld, i.e. Total Motile sperm Count (TMC) < 2 miljoen progressief bewegende zaadcellen vóór capacitatie (Hargreave, 1983).

Indien er data beschikbaar zijn van een uitgevoerde laparoscopie, worden deze opgenomen in het studiedossier. Laparoscopiegegevens zullen gebruikt worden om de cases en controles te vergelijken, maar ze zijn niet noodzakelijk als inclusie criterium. Eerder onderzoek wijst namelijk uit dat ernstige mannelijke infertiliteit een normale laparoscopie inhoudt (Aytoz, 1998).

Definitieve inclusie als controle in de studie gebeurt na bewezen zwanger (echo met bewezen harttonen) binnen de 6 maanden of binnen de 3 behandelingscycli met IUI.

Een potentieel interessante controlegroep zijn vrouwen die reeds bevallen zijn (bewezen zwangerschap) en die de kliniek raadplegen voor een opvolgconsultatie op ongeveer 10 weken na de bevalling. De serumconcentratie van sommige vetgerelateerde pollutanten (PCBs, dioxine-achtige stoffen, gechloroerde pesticiden, gebromeerde vlamvertragers) wordt echter beïnvloed door zwangerschap, pariteit en het geven van borstvoeding (Schade and Heinzow 1998; Falk, Hanrahan et al. 1999; Solomon and Weiss 2002; Jonsson, Rylander et al. 2005). In principe kan hiervoor gecorrigeerd worden in de statistische analyses. Toch wordt beslist om bevallen moeders voorlopig niet te rekruteren als controles. Indien halfweg de rekrutering blijkt dat het moeilijk is om voldoende controles te rekruteren via de fertiliteitsklinieken, kunnen ook pas bevallen moeders worden aangesproken. Er worden dan enkel moeders geselecteerd die geen borstvoeding geven, en er zal extra aandacht worden besteed aan de selectie van confounders in de statistische analyse (zie 4.4.8).

4.1.3 Rekrutering van deelnemers

In totaal zullen 75 cases en 75 controles worden gerekruteerd (zie steekproefberekeningen onder 4.3.2.).

Zowel de cases als de controles worden gerekruteerd via de fertiliteitskliniek. De rekrutering gebeurt simultaan in de 3 deelnemende centra, zonder voorafgaande quota per centrum wat betreft aantal cases of controles.

De cases worden geselecteerd op basis van klinische criteria (>18 maanden onverklaarbare subfertiliteit). De studie wordt uitgelegd door de studieverpleegster en er wordt een informed consent gevraagd. Het nemen van stalen en afnemen van de vragenlijsten gebeurt tijdens de geplande afspraken; er is dus geen extra ziekenhuisbezoek vereist in het kader van de studie.

Controles zijn patiënten die de fertilitetskliniek bezoeken waarbij er een vermoeden is van normale vruchtbaarheid. Indien potentiële controles voldoen aan de inclusiecriteria wordt de studie uitgelegd door de studieverpleegster. Na ondertekenen van het informed consent, worden bloed- en urinestaal genomen en een vragenlijst ingevuld. De inclusie in de studie wordt definitief na bewezen zwangerschap, i.e. echo met bewezen harttonen binnen de 6 maanden of binnen de 3 behandelingscycli met IUI na rekrutering. Indien er binnen deze periode geen zwangerschap is opgetreden, komt de deelnemer niet meer in aanmerking voor de studie. De stalen en de vragenlijst worden vernietigd, en de deelnemer wordt hierover geïnformeerd

4.2 Selectie van blootstellingsmerkers

4.2.1 Keuze van biomerkers

De keuze van de biomerkers van blootstelling in de case-control studie is afgestemd op de merkers die in het Vlaams Humaan Biomonitoringsproject 2007-2011 zullen worden gemeten. Een aantal van deze polluenten zijn gekend als endocriene verstoorders bij de vrouw omwille van oestrogene of anti-oestrogene effecten, of rechtstreekse effecten op de semen kwaliteit.

De polluentenmetingen in de case-control studie zullen getrappt gebeuren. Een aantal metingen zullen met zekerheid gebeuren (1); voor andere polluenten worden de resultaten van de biomonitoringscampagne afgewacht (2).

(1) Polluenten die zeker worden gemeten

Een aantal polluenten zoals PCBs, dioxine-achtige stoffen (Calux assay) en gechloreerde pesticiden (HCB en p,p'-DDE) zijn reeds gemeten in vorige biomonitoringscampagnes. De onderzoeksgroep heeft ervaring met deze metingen, en op basis van de steekproefberekeningen (zie 4.3.2) kan verondersteld worden dat we met een studie van 150 deelnemers (75 controles en 75 cases) een verschil van 22% (merker PCBs) tot 54% (p,p'-DDE) kunnen aantonen. De endocriene effecten van deze polluenten zijn reeds beschreven, zowel *in vitro* onderzoek, in proefdieronderzoek als in humane studies.

(2) Polluenten die mogelijk worden gemeten

Een aantal 'nieuwere' polluenten zoals gebromeerde vlamvertragers (polygebromeerde diphenylethers, hexabromocyclododecaan, tetrabromobisphenol A), weekmakers (ftalaten, bisphenol A) en perfluoroderivaten (PFOS, PFOA) werden tot nu toe nog niet op grote schaal gemeten in de Vlaamse bevolking. De ervaring met het uitvoeren van deze metingen is beperkt binnen de onderzoeksgroep. Er zijn dan ook onvoldoende gegevens beschikbaar om

steekproefberekeningen uit te voeren. Bovendien is voor sommige polluenten enkel literatuur beschikbaar van *in vitro* of proefdieronderzoek en niet over effecten op de fertiliteit bij de mens.

De biomonitoringscampagne in de algemene Vlaamse bevolking vindt plaats in 2008 en 2009; de rapportering is voorzien voor eind 2009. Begin 2010 zal dus meer informatie beschikbaar zijn over de meting van de nieuwe polluenten in de Vlaamse bevolking (gemiddelde waarden, spreiding binnen de populatie, enz.). Op dat moment kan beslist worden welke polluenten gemeten zullen worden in de case-control studie. Er wordt vanaf de start van de case-control studie voldoende matrix genomen (bloed en urine) om alle mogelijke metingen uit te voeren.

4.2.2 Steekproefberekeningen

Op basis van metingen uitgevoerd in Vlaamse bevolking in het Steunpunt Milieu en Gezondheid 2001-2006, kunnen steekproefberekeningen worden uitgevoerd voor de huidige studie.

Er werd vertrokken van het gemiddelde en het 95% betrouwbaarheidsinterval van de biomerkers die gemeten werden bij 1600 volwassenen (50-65 jaar). Op basis van deze gegevens werd berekend hoeveel deelnemers nodig zijn om in een case-control studie met aanname van 1 controle per case een verschil van 20, 30 of 50% tussen de 2 groepen aan te tonen.

polluent	eenheid	n	geom. gemidd.	onderste BI	bovenste BI	gewenste verschil	aantal nodig per groep
calux	pg/g vet	1397	19,2	18,2	20,2	20%	386
						30%	172
						50%	63
PCB's	ng/g vet	1530	333	325	341	20%	90
						30%	41
						50%	16
DDE	ng/g vet	1530	423	398	449	20%	553
						30%	243
						50%	87
HCB	ng/g vet	1530	56,9	55,2	58,6	20%	133
						30%	60
						50%	23
bloed lood	µg/l	1534	39,6	38,4	40,9	20%	146
						30%	66
						50%	25
bloed cadmium	µg/l	1534	0,42	0,4	0,44	20%	340
						30%	152
						50%	56
urinair cadmium	µg/g crt	1535	0,62	0,6	0,64	20%	157
						30%	71
						50%	26

Besluit: 75 patiënten per groep is voldoende om een verschil van 30 à 50% aan te tonen tussen de 2 groepen.

4.3 Gedetailleerde beschrijving van de studie

De klinische metingen worden zoveel mogelijk geïntegreerd in het normale kliniekbezoek en indien mogelijk worden gegevens uit het medisch dossier overgenomen in het studie-dossier.

4.3.1 Informatie aan de deelnemer en geïnformeerde toestemming

De studie wordt uitgelegd aan de patiënt tijdens de consultaties en er wordt aan de patiënt gevraagd om het geïnformeerd toestemmingsformulier te ondertekenen (Zie Appendix 1). De procedure en de toestemming is identiek voor cases en controles.

De verantwoordelijke arts binnen ieder centrum ondertekent de verklaring van de hoofdonderzoeker (Prof. dr. H. Tournaye voor VUB, Prof. dr. T. D'Hooghe voor UZ Gasthuisberg, Dr. A. Mahmoud en/of Prof. dr. P. De Sutter voor UGent). De contactgegevens van Vito (Dr. E. Den Hond) worden vermeld voor bijkomende informatie over de toxicologische metingen.

4.3.2 Anamnese, klinisch onderzoek

Volgende parameters worden nagekeken:

- Regelmatige menses: frekwentie van menstruatie om de 24 tot 38 dagen, met een cyclus-tot-cyclus variatie van 2 tot maximum 20 dagen tijdens de laatste 12 maanden (Fraser, Critchley et al. 2007).
- Exclusie van mogelijke externe oorzaken van fertiliteit zoals: voorgaande chemotherapie, radiotherapie, chirurgie ter hoogte van voortplantingsorganen, pelvische infectie;
- Serologisch onderzoek (Hepatitis B en C);
- Abdominaal en pelvisch gynaecologisch onderzoek;
- Gynaecologische echografie.

4.3.3 Laparoscopie

Bij alle cases moeten gegevens beschikbaar zijn van een goed gedocumenteerde laparoscopie, uitgevoerd in de voorbije 2 jaar. Indien er gegevens van een laparoscopie beschikbaar zijn voor controles, worden ze opgenomen in het studiedossier.

Het formulier in *Appendix 2* wordt gebruikt voor het registreren van de data van de laparoscopie.

4.3.4 Analyse van hormonen in serum

Volgende metingen worden bepaald: LH, FSH, E2, testosteron, SHBG, TSH, fT4, fT3, ASD, DHEAS en 17 alfa hydroxy progesteron.

Er wordt een nuchter veneus bloedstaal afgenomen tussen D2 en D5 van de menstruele cyclus. Er worden 4 fracties van 0,5 mL serum ingevroren en bewaard bij -20°C. De bloedname voor de meting van hormonen gebeurt simultaan met de bloedname voor de blootstellingsmerkers (zie 4.3.5).

De stalen van de drie centra worden op regelmatige tijdstippen (ongeveer om de 6 maanden) in 1 batch geanalyseerd in éénzelfde laboratorium.

De veldwerkprocedure voor staalname staan beschreven in *Appendix 4*

4.3.5 Analyse van blootstellingsmerkers

a. Metingen in bloed

Zoals aangegeven in 4.3.1. worden sommige toxicologische metingen met zekerheid uitgevoerd, en andere pas na bijkomende informatie uit de algemene biomonitoringcampagne. Het staalnameschema voorziet voldoende matrix voor de uitvoer van alle metingen, en een restfractie aan volbloed en serum. Metingen die niet worden uitgevoerd, kunnen eventueel worden vervangen door andere metingen indien de staalname- en bewaarcondities gerespecteerd werden.

Voor alle metingen wordt bloed of serum genomen volgens het voorgeschreven protocol en in de geschikte recipiënten. De stalen worden gecodeerd met het studienummer van de deelnemer. Stalen worden ingevroren bij -20°C of -80°C volgens de voorschriften en op geregelde tijdstippen getransporteerd naar Vito. Vito is verantwoordelijk voor de contacten met de laboratoria.

Een gedetailleerde beschrijving van de metingen wordt gegeven in *Appendix 3*.
De veldwerkprocedure voor staalname staan beschreven in *Appendix 4*.

De minimale volumes voor het uitvoeren van de toxicologische metingen worden gegeven in onderstaande tabel:

	Volume serum
<i>Biomerkers van blootstelling</i> (zie 4.3.5)	
Calux assay	5 mL
PCBs + HCB + p,p'-DDE + PBDE + HBCD	4 mL
BPA + TBBPA	1,5 mL
PFOS + PFOA	2,5 mL
<i>Hormonen</i> (zie 4.3.4)	
LH, FSH, E2, T, SHBG, TSH, fT4, fT3, ASD, DHEAS, 17- α -OH-progesteron	2 mL
Totaal volume:	15 mL serum

Afkortingen: PCBs = polygechloreerde biphenyls; HCB = hexachloorbenzeen; p,p'-DDE = dichloordiphenyldichloorethaan (metabooliet van DDT); PBDE = polygebromeerder dinphenylethers; HBCD = hexabromocyclododecaan; BPA = bisphenol A; TBBPA = tetrabromobisphenol A; PFOS = perfluoro-octaansulfonaat; PFOA = perfluoro-octaanzuur

In totaal wordt 40 mL bloed genomen:

- 40 mL bloed voor serum (droge tube): na centrifugatie: 15 mL serum + restfractie.

b. Metingen in urine

In de urine worden metabolieten van ftalaten gemeten. Hiervoor is 10 mL urine nodig. Aangezien met spot-urine wordt gewerkt, is een correctie nodig voor de verdunningsgraad van de urine. Daarom zal ook creatinine worden gemeten in de urine (10 mL staal nodig). In totaal is dus 20 mL urine nodig. Een gedetailleerde beschrijving van de uit te voeren metingen is gegeven in **Appendix 3**.

Polluent	Volume urine
Ftalaten	10 mL
Creatinine	10 mL
Totaal:	20 mL urine

Bij het ondertekenen van het informed consent wordt een urinecontainer van 50 mL met de deelnemer meer naar huis gegeven (samen met de vragenlijst). Dit recipiënt is vrij van ftalaten (certificaat fabrikant). De deelnemer collecteert 50 mL ochtendurine (20 mL voor analyses + restfractie).

In het ziekenhuislaboratorium wordt de urine verdeeld het voorgeschreven protocol en in de geschikte recipiënten (zie **Appendix 4**). De stalen worden gecodeerd met het studienummer van de deelnemer, ingevroren bij -20°C en op geregelde tijdstippen getransporteerd naar Vito. Vito is verantwoordelijk voor de contacten met de laboratoria.

4.3.6 Vragenlijsten

Bij de statistische verwerking en de interpretatie van de gegevens moet rekening worden gehouden met een aantal versturende factoren (confounders en covariaten) zoals leeftijd, roken, alcohol- en koffieconsumptie, sociale klasse, e.a. Deze informatie wordt verkregen via vragenlijsten (zie *Appendix 5*). De vragen zijn grotendeels overgenomen uit de vragenlijsten van de algemene biomonitoringscampagne.

De vragenlijst wordt met de deelnemer mee naar huis gegeven op het moment dat zij het geïnformeerd toestemmingsformulier ondertekent en terug aan de arts bezorgd bij de volgende afspraak (dag van bloed- en urinecollectie).

4.3.7 Data management

In iedere kliniek wordt per deelnemer een dossier aangelegd. Hierbij wordt gewerkt met een uniek identificatienummer. Naam en adres van de deelnemer zijn enkel beschikbaar voor de verantwoordelijke arts binnen ieder fertiliteitscentrum.

Het patiëntendossier bevat het geïnformeerde toestemmingsformulier, informatie van het klinisch onderzoek (CRF's), resultaten van bloed- en urineanalyses en ingevulde vragenlijsten. Ook van patiënten die uit de studie vallen of die weigeren deel te nemen wordt een dossier aangelegd. Bij de weigeraars wordt een korte enquête afgenomen (leeftijd, opleiding, beroep, rookgewoonten) om achteraf een non-responder analyse toe te laten. (zie geïnformeerd toestemmingsformulier in *Appendix 1*).

De informatie van de CRFs en de antwoorden van de vragenlijsten wordt dubbel ingegeven en gecheckt op fouten.

De resultaten van de hormoonanalyses en de resultaten van de toxicologische metingen zullen elektronisch aangeleverd worden door de laboratoria en samengevoegd met de rest van de gegevens. Data management gebeurt met Excel, Statistica en/of SAS software.

4.3.8 Statistisch analyse plan

a. Algemeen

Het primaire doel van de studie is om na te gaan of blootstelling aan polluenten geassocieerd is met het risico op onverklaarde verminderde vruchtbaarheid bij de vrouw. De gemiddelde blootstelling aan polluenten bij vrouwen met subfertiliteit (cases) zal vergeleken worden met de gemiddelde blootstelling bij gezonde controles, na correctie voor versturende factoren. Via logistische regressie-analyse zal worden nagegaan of het risico op subfertiliteit geassocieerd is met blootstelling aan polluenten. De impact van de gecombineerde blootstelling aan meerdere polluenten zal worden nagegaan.

Als bijkomende onderzoeksvraag zal worden getest of de serumconcentraties van geslachtshormonen geassocieerd zijn met blootstelling aan polluenten. Deze analyse heeft tot doel om meer inzicht te verkrijgen in de relatie tussen blootstelling aan polluenten en subfertiliteit.

b. Gedetailleerde beschrijving

Beschrijving van de groepen

De cases en controles worden beschreven naar o.a. leeftijd, geslacht, rookgedrag, socio-economische status, voedingsgewoonten en professionele blootstelling. Het is belangrijk om een zicht te hebben op eventuele verschillen in de onderzoekspopulaties daar deze aan de basis kunnen liggen van verschillen waargenomen in blootstelling.

Beschrijvende statistiek voor de blootstellingsmerkers

Voor alle merkers wordt nagegaan of ze normaal verdeeld zijn (*boxplots, histogram, Shapiro Wilk test,...*), en welke transformatie kan worden toegepast om de verdeling te normaliseren. Dit laat dan ook toe om parametrische testen te gebruiken in de verdere analyses. Samenvattende statistieken en grafische presentaties zullen gebruikt worden om de blootstellingsmerkers in de cases en controles weer te geven.

Selectie van confounders en covariabelen

Tal van factoren waaronder leeftijd, geslacht, levensstijlfactoren, hobby's, sociaal-economische status,... kunnen een invloed hebben op de blootstellingsmerkers. Deze factoren kunnen verschillen tussen cases en controles. Wanneer deze risicofactoren de bestudeerde relatie vertekenen, worden ze 'versturende' variabelen genoemd.

Bij de analyse maken we een onderscheid tussen *confounders* en *covariaten*. Confounders zijn factoren die met zekerheid gerelateerd zijn aan de blootstelling en aan de bestudeerde eindpunten; ze worden op voorhand gedefinieerd op basis van de literatuur en zeker meegenomen als correctiefactoren in de analyses. Covariaten zijn factoren die mogelijk geassocieerd zijn met de blootstelling of het effect; er wordt binnen de bestudeerde populatie getest of ze significant gerelateerd zijn aan de blootstelling of het effect, en ze worden enkel meegenomen in de verdere analyses indien dit het geval is.

Vergelijking van de blootstellingsmerkers in cases en controles

De blootstelling in cases wordt vergeleken met de blootstelling in controles door middel van een *analyse van variantie (ANOVA)*, na correctie voor confounders en significante covariaten.

Risico op subfertiliteit geassocieerd met blootstelling

Het risico op subfertiliteit dat geassocieerd is met blootstelling aan de verschillende polluenten kan geschat worden door middel van *logistische regressie-analyse*, na correctie voor confounders en covariaten van effect.

De impact van de gecombineerde blootstelling aan meerdere polluenten zal worden nagegaan door meerdere polluenten samen te bestuderen in hetzelfde logistische regressiemodel.

Om continue associaties te bestuderen tussen de blootstelling aan polluenten en de hormoongehalten in het serum, zullen we gebruik maken van enkelvoudige en meervoudige regressiemodellen. De lineariteit van de associaties zal worden nagegaan met behulp van grafische weergave (effectmerkers in kwartielen van blootstellingsmerkers). Mogelijk niet-lineaire relaties zullen verder worden bestudeerd door het kwadraat van de te bestuderen variabele mee in het model op te nemen.

4.4 Communicatie van de resultaten

4.4.1 Communicatie van de individuele resultaten

De medische gegevens van de patiënt (resultaten hormoonanalyse, klinisch onderzoek) worden individueel met de patiënt besproken tijdens de consultaties in de fertiliteitskliniek.

De deelnemer heeft het recht om op het einde van de studie haar individuele metingen van de blootstellingsmerkers te ontvangen. In het geïnformeerd toestemmingsformulier (zie *Appendix 1*) wordt gevraagd of de deelnemer haar individuele resultaten van de blootstellingsmerkers al dan niet wil ontvangen.

Indien de deelnemer haar individuele resultaten van de toxicologische metingen wenst te ontvangen, worden deze op het eind van de studie naar haar thuis verstuurd. Indien er een gezondheidkundige norm voor de polluent beschikbaar is, wordt het individuele resultaat vergeleken met deze norm (bijv. norm voor bloed lood is 100 $\mu\text{g/L}$; norm voor urinair cadmium is 2 $\mu\text{g/g}$ creatinine). Indien er geen norm gekend is, wordt een indicatie gegeven van de plaats van de individuele waarde t.o.v. de rest van de groep. Er kan bijvoorbeeld worden aangegeven in welk kwartiel van de onderzoeksgroep een individueel resultaat valt. Hierbij wordt de nodige uitleg verschaft. Daarnaast wordt in korte, begrijpbare taal een folder toegevoegd met basisinformatie over de gemeten polluenten. Tot slot, worden in de brief met de individuele resultaten contactgegevens verstrekt waar de deelnemer terecht kan voor bijkomende vragen rond de medische aspecten van de gemeten polluenten of over de toxicologische inhoud van de studie.

De onderzoeksgroep heeft reeds ervaring met het meedelen van individuele resultaten van blootstellingsmerkers. Er wordt op analoge manier te werk gegaan voor de resultaten die bekomen worden bij de algemene bevolking voor het opstellen van referentiewaarden voor biomarker van blootstelling voor Vlaanderen. De documenten worden voorbereid door de onderzoeksgroep. Het opsturen van de brieven gebeurt door de verantwoordelijke artsen van ieder fertiliteitscentrum aangezien alleen zij beschikken over naam en adres van de patiënt.

4.4.2 Onderzoeksrapport

De rapportering van de collectieve onderzoeksresultaten gebeurt op drie verschillende manieren:

1. In een (Nederlandstalig) onderzoeksrapport voor de opdrachtgever worden de resultaten van de studie gerapporteerd. Dit rapport wordt na goedkeuring door het Dagelijks Bestuur van het Steunpunt Milieu en Gezondheid (alle promotoren) voorgelegd aan de Stuurgroep van het Steunpunt Milieu en Gezondheid. De verantwoordelijke administraties binnen de Vlaamse Overheid zijn het departement Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE) en het Vlaams Ministerie van Welzijn, Volksgezondheid en Gezin (VWG).
Dit rapport wordt ook verspreid onder intermediairen, zoals huisartsen, medisch milieukundigen, milieu-ambtenaren, onderzoekers van universiteiten, enz.
2. De resultaten zullen door de verantwoordelijke wetenschappers verwerkt worden tot wetenschappelijke publicaties voor peer review. Co-auteurs zijn de partners opgelijst in §2.
3. Er wordt een korte, begrijpelijke tekst geschreven die de resultaten samenvat voor een algemeen publiek. Dit rapportje wordt aan de individuele deelnemers gestuurd en op de website van het Steunpunt (www.milieu-en-gezondheid.be) geplaatst waar het beschikbaar is voor het algemeen publiek.

Deze manier van rapporteren past in de communicatiestrategie van het Steunpunt Milieu en Gezondheid die is uitgewerkt door het instituut Milieukunde, Faculteit Politieke en Sociale Wetenschappen van de UA, onder leiding van Prof. Ilse Loots.

5 REFERENTIES

- Aytoz, A., H. Tournaye, et al. (1998). "Is there any need for diagnostic laparoscopy in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection for severe male-factor infertility." *J Assist Reprod Genet* **15**(2): 79-83.
- Beurskens, MP, Maas JW, Evers JL. Subfertiliteit in Zuid-Limburg: berekening van incidentie en van beroep op specialistische zorg. *Ned Tijdschr Geneesk* 1995;139:235-8.
- Calafat AM, Ye X, Silva MJ, Kuklenyik Z, Needham LL. Human exposure assessment to environmental chemicals using biomonitoring. *Int J Androl* 2006;29(1):166-71.
- Connor K, Ramamoorthy K, Moore M, Mustain M, Chen I, Safe S, Zacharewski T, Gillesby B, Joyeux A, Balaguer P. Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls (PCBs) as Estrogens and Antiestrogens: Structure-Activity Relationships. *Tox Appl Pharmacol* 1997; 145:111-123.
- Falk, C., L. Hanrahan, et al. (1999). "Body burden levels of dioxin, furans, and PCBs among frequent consumers of Great Lakes sport fish. The Great Lakes Consortium." *Environ Res* **80**(2 Pt 2): S19-S25.
- Fierens S, Mairesse H, Heilier JF, De Burbure C, Focant JF, Eppe G, De Pauw E, Bernard A. Dioxin/polychlorinated biphenyl body burden, diabetes and endometriosis: findings in a population-based study in Belgium. *Biomarkers* 2003; 8:529-34.
- Fraser, I. S., H. O. Critchley, et al. (2007). "A process designed to lead to international agreement on terminologies and definitions used to describe abnormalities of menstrual bleeding." *Fertil Steril* **87**(3): 466-76.
- Jonsson, B. A., L. Rylander, et al. (2005). "Inter-population variations in concentrations, determinants of and correlations between 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) and 1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl)-ethylene (p,p'-DDE): a cross-sectional study of 3161 men and women from Inuit and European populations." *Environ Health* **4**: 27.
- Hargreave, T. B. and R. A. Elton (1983). "Is conventional sperm analysis of any use?" *Br J Urol* **55**(6): 774-9.
- Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, Coulson C, Lambert PA, Watt EM, Desai KM. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J* 1985; 291:1693-7.
- Koppen G, Covaci A, Van Cleuvenbergen R, Schepens P, Winneke G, Nelen V, van Larebeke N, Vlietinck R, Schoeters G. Persistent organochlorine pollutants in human serum of 50-65 years old women in the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS). Part 1: Concentrations and regional differences. *Chemosphere* 2002; 48:811-25.
- Korrick SA, Chen C, Damokosh AI, Ni J, Liu X, Cho SI, Altshul L, Ryan L, Xu X. Association of DDT with spontaneous abortion: a case-control study. *Ann Epidemiol* 2001; 11:491-6.
- Latini G, Verrotti A, De Felice C. DI-2-ethylhexyl phthalate and endocrine disruption: a review. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord* 2004; 4:37-40.
- Lau C, Butenhoff JL, Rogers JM. The developmental toxicity of perfluoroalkyl acids and their derivatives. *Tox Appl Pharmacol* 2004; 198:231-241.

- Longnecker MP, Klebanoff MA, Dunson DB, Guo X, Chen Z, Zhou H, Brock JW. Maternal serum level of the DDT metabolite DDE in relation to fetal loss in previous pregnancies. *Environ Res* 2005; 97:127-33.
- Maffini MV, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 254-255:179-186.
- Metcalf SW, Orloff KG. Biomarkers of exposure in community settings. *J Toxicol Environ Health A* 2004;67:715-26.
- Nawrot TS, Staessen JA, Den Hond EM, Koppen G, Schoeters G, Fagard R, Thijs L, Winneke G, Roels HA. Host and environmental determinants of polychlorinated aromatic hydrocarbons in serum of adolescents. *Environ Health Perspect* 2002;110:583-9.
- Pant N, Upadhyay G, Pandey S, Mathur N, Saxena DK, Srivastava SP. Lead and cadmium concentration in the seminal plasma of men in the general population: correlation with sperm quality. *Reprod Toxicol* 2003; 17: 447-450.
- Pauwels A, Schepens PJ, D'Hooghe T, Delbeke L, Dhont M, Brouwer A, Weyler J. The risk of endometriosis and exposure to dioxins and polychlorinated biphenyls: a case-control study of infertile women. *Hum Reprod* 2001; 16:2050-5.
- Porpora MG, Ingelido AM, di Domenico A, Ferro A, Crobu M, Pallante D, Cardelli M, Cosmi EV, De Felip E. Increased levels of polychlorobiphenyls in Italian women with endometriosis. *Chemosphere* 2006; 63:1361-7.
- Schade, G. and B. Heinzow (1998). "Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human milk of mothers living in northern Germany: current extent of contamination, time trend from 1986 to 1997 and factors that influence the levels of contamination." *Sci Total Environ* **215**(1-2): 31-9.
- Schoeters G, Den Hond E, Zuurbier M, Naginiene R, Van Den Hazel P, Stilianakis N, Ronchetti R, Koppe J. Cadmium and children: exposure and health effects. *Acta Paediatr Suppl* 2006; 95:50-54.
- Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *Lancet* 1993;341:1392-5.
- Snick HK, Snick TS, Evers JL, Collins JA. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Hum Reprod* 1997;12:1582-8.
- Solomon, G. M. and P. M. Weiss (2002). "Chemical contaminants in breast milk: time trends and regional variability." *Environ Health Perspect* **110**(6): A339-47.
- Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, Giwercman A, Grandjean P, Guillette LJ Jr, Jegou B, Jensen TK, Jouannet P, Keiding N, Leffers H, McLachlan JA, Meyer O, Muller J, Rajpert-De Meyts E, Scheike T, Sharpe R, Sumpter J, Skakkebaek NE. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environ Health Perspect* 1996 Suppl 4:741-803.

Appendix 1: Geïnfomeerd toestemmingsformulier



TOESTEMMING TOT DEELNAME AAN BIOMONITORING

Studie van het Steunpunt Milieu en Gezondheid



Doel van de studie:

In onze Westerse maatschappij komen we dagelijks in contact met milieuvervuilende stoffen. Een aantal van deze stoffen heeft een hormoonversturende werking, dit wil zeggen dat ze de normale werking van de hormonen in ons lichaam in de war brengen. Via deze hormoonverstoring kunnen ze een nadelig effect hebben op de vruchtbaarheid van de man of de vrouw.

Sommige milieuvervuilende stoffen kunnen we meten in de mens. Door deze stoffen of hun afbraakproducten te meten in bloed of urine, krijgen we een idee over de mate waarin die persoon is blootgesteld aan milieuvervuiling. Het meten van de blootstelling in de mens noemen we **biomonitoring**.

In opdracht van de Vlaamse Regering werd er een Steunpunt Milieu en Gezondheid opgericht waarbij alle Vlaamse universiteiten en een aantal onderzoeksinstellingen in Vlaanderen betrokken zijn. Het Steunpunt wil meer kennis verwerven over de effecten van milieuvervuilende stoffen op de gezondheid van de mens.

Uw medewerking wordt gevraagd voor een studie over de relatie tussen milieuvervuilende stoffen en vruchtbaarheid. **We willen nagaan of vrouwen met een verstoorde vruchtbaarheid meer zijn blootgesteld aan milieuvervuilende stoffen in vergelijking met vrouwen met een normale vruchtbaarheid.** Uw medewerking aan deze studie werd gevraagd, hetzij als patiënt, hetzij als controle.

Verloop van de studie:

We vragen uw deelname aan deze biomonitoringstudie. Hiervoor vragen we een bloedstaal (40 mL) en een urinestaal (50 mL). Verder vragen we dat u een vragenlijst invult die informatie geeft over uw voeding, woonomgeving, leefstijl, ziekte en gezondheid. Het onderzoek vindt plaats tijdens de normale consultaties in de fertilitetskliniek.

De resten van urine-, of bloedstalen worden voor onbepaalde tijd bewaard door de onderzoeksgroep en kunnen in de toekomst gebruikt worden om nieuwe metingen uit te voeren. Het gaat steeds om metingen van vervuilende stoffen of van biologische effecten die in verband gebracht kunnen worden met blootstelling aan vervuilende stoffen. Deze bijkomende analyses zullen vooraf ter goedkeuring voorgelegd worden aan de ethische commissie.

Het zou kunnen dat u later gecontacteerd wordt door het onderzoeksteam voor extra bevraging of analyses. U heeft de mogelijkheid om hier al dan niet op in te gaan.

Vrijwillige deelname / Intrekking van deelname uit de studie:

U kan op elk moment beslissen om niet verder aan het onderzoek deel te nemen en uit het onderzoek te stappen, zelfs al heeft u dit formulier ondertekend. Gelieve ons dit schriftelijk te melden.

U kan vragen dat alle stalen die u gegeven heeft, vernietigd worden en niet langer deel uitmaken van deze studie. De resultaten van de reeds uitgevoerde analyses blijven wel tot de studie behoren.

Mogelijke risico's:

Er is weinig risico verbonden aan het verzamelen van bloed of urine. Het nemen van het bloedstaal kan onaangenaam zijn door de prik en kan in het slechtste geval een blauwe plek veroorzaken. Ervaren verpleegsters zullen deze bloedafname uitvoeren.

Kosten:

Deelname aan de studie is gratis. Onderzoeken die speciaal voor de studie worden uitgevoerd, worden u niet aangerekend.

Vertrouwelijkheid:

Onderzoekers verwerken de informatie uit de vragenlijst en de stalen. Uw naam en adres worden vervangen door een code. Indien de resultaten van deze studie gepubliceerd worden in een rapport of wetenschappelijk tijdschrift zal uw naam op geen enkele manier genoemd worden. Alle informatie wordt vertrouwelijk behandeld conform de wet op de privacy.

Recht op informatie:

U heeft het recht om informatie te vragen over het onderzoeksproject en de procedures die in dit document beschreven worden. Alle redelijke vragen voor informatie zullen beantwoord worden door de hoofdonderzoeker naar best vermogen. De onderzoekers zullen u informeren wanneer belangrijke veranderingen in de procedures, de risico's of de voordelen van deze studie zouden voorkomen.

Indien u dit wenst zenden wij u de persoonlijke resultaten. Wij vragen u eventuele adreswijzigingen door te geven aan het onderzoeksteam.

Informatie over de stand van het onderzoek kan u vinden op de website van het Steunpunt Milieu en Gezondheid: www.milieu-en-gezondheid.be. Daar zullen ook de groepsresultaten beschikbaar worden gemaakt op het einde van de studie.

Verklaring van de hoofdonderzoeker: De hoofdonderzoeker is, mede namens de leiding van het Steunpunt Milieu en Gezondheid, verantwoordelijk om dit onderzoeksprogramma uit te voeren volgens de voorwaarden die beschreven zijn in dit document.

Handtekening hoofdonderzoeker:

Prof. dr. Herman Tournaye

Tel. 02 477 66 12

Contactpersoon i.v.m. de biomonitoring:

Dr. Elly Den Hond

Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (VITO)

Tel. 014 33 52 28

E-mail: elly.denhond@vito.be

Comment [d1]: 3 aparte IC formulieren: 1 per centrum met telkens een andere hoofdonderzoeker: H. Tournaye voor VUB, T. D'Hooghe voor KUL, A. Mahmoud en/of P. De Sutter voor UGent



**TOESTEMMING TOT DEELNAME AAN DE STUDIE
MILIEU EN GEZONDHEID IN VLAANDEREN**

BIOMONITORING



Gelieve dit document terug te bezorgen aan de verantwoordelijke arts

Ik heb het toestemmingsformulier gelezen en begrijp de voordelen en mogelijke risico's van deze studie. Ik neem vrijwillig deel aan deze studie.

Naam: _____

Adres: _____

Telefoonnummer: _____

Wenst u een persoonlijk resultaat te ontvangen van de metingen? (1 bolletje kleuren)

- ja, ik wens persoonlijke resultaten te ontvangen op mijn thuisadres. Bij adreswijziging zal ik mijn nieuwe adres doorgeven aan het onderzoeksteam.
- neen, ik wens geen persoonlijke resultaten te ontvangen

Ik heb het toestemmingsformulier gelezen en ik wens niet deel te nemen aan de studie. Ik ben wel bereid om enkele korte vragen te beantwoorden. (zie achterzijde van dit formulier)

Gelezen en goedgekeurd,

Handtekening

____/____/____
Datum

Indien u niet deelneemt, zouden we u toch willen verzoeken om volgende korte vragen te beantwoorden:

Hoe oud bent u? _____ jaar

Rookt u? ja neen

Wat is uw hoogste diploma?

- lager onderwijs
- lager secundair onderwijs
- hoger BSO/TSO
- hoger ASO
- hoger onderwijs buiten de universiteit (HOBU)
- universiteit

Wat is uw beroep? _____

Appendix 2: Registratie van data van laparoscopie

Patient ID/Code

Date:

(dd/mm/yy)

1. Ultrasound scan: N _0 Y _1

If there was no ultrasound scan go to question 2

If scan performed, were the following seen?

- endometrioma: N _0 Y _1

- nodule: N _0 Y _1

2. Any pathology observed during surgery? N _0 Y _1

→ If no: end of questionnaire

3. Endometriosis? N _0 Y _1

Revised American Fertility Society Classification:

Perito- neum	Endometriosis	<1cm	1-3cm	>3cm
	superficial	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	deep	2 <input type="checkbox"/> _4	4 <input type="checkbox"/> _5	6 <input type="checkbox"/> _6
ovary	Left superficial	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	deep	4 <input type="checkbox"/> _4	16 <input type="checkbox"/> _5	20 <input type="checkbox"/> _6
	Right superficial	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	deep	4 <input type="checkbox"/> _4	16 <input type="checkbox"/> _5	20 <input type="checkbox"/> _6
	Posterior cul-de-sac obliteration	Partial		Complete
		4 <input type="checkbox"/> _1		40 <input type="checkbox"/> _2
ovary	Adhesions	<1/3 enclosure	1/3 – 2/3	>2/3 enclosure
	Left filmy	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	dense	4 <input type="checkbox"/> _4	8 <input type="checkbox"/> _5	16 <input type="checkbox"/> _6
	Right filmy	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	dense	4 <input type="checkbox"/> _4	8 <input type="checkbox"/> _5	16 <input type="checkbox"/> _6
f tube	Left filmy	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	dense	4* <input type="checkbox"/> _4	8* <input type="checkbox"/> _5	16 <input type="checkbox"/> _6
	Right filmy	1 <input type="checkbox"/> _1	2 <input type="checkbox"/> _2	4 <input type="checkbox"/> _3
	dense	4* <input type="checkbox"/> _4	8* <input type="checkbox"/> _5	16 <input type="checkbox"/> _6

If the fimbriated end of the fallopian tube is completely enclosed, change the point assignment to 16

Total score:

Endometriotic nodule (>1 cm diameter):

- bladder: N _0 Y _1

- cul-de-sac: N _0 Y _1

- bowel: N _0 Y _1

Additional findings:

- No other pathology found → END OF QUESTIONNAIRE
- Fibroids: N _0 Y _1
- Adhesions (without evidence of endometriosis): N _0 Y _1
- Non-endometriotic ovarian cyst: N _0 Y _1
- Any other findings

Appendix 3: Gedetailleerde beschrijving van de metingen

- Meting van biomerkers van blootstelling in bloed

De meting van **merker PCBs** (congeneren 118, 138, 153, 170 en 180), van **hexachlorobenzeen**, **p,p'-DDE**, **merker PBDEs** (congeneren 28, 47, 99, 100, 153, 183 en 209) en **hexabromocyclododecaan** gebeurt met "gas chromatography - electron capture negative ionization - mass spectrometry" (GC-ECNI/MS) na solid-phase extractie (Covaci and Schepens 2001; Covaci and Voorspoels 2005). Kwantificatielimieten zijn 0.02 ng/mL voor HCB, p,p'-DDE en individuele PCB congenen en 0.01 ng/mL voor HBCD en individuele PBDE congenen.

De meting van **bisphenol A** en **tetrabromobisphenol A** gebeurt met GC-ECNI/MS na solid-phase extractie en derivatisatie (Dirtu, Roosens et al. 2007). De kwantificatielimiet bedraagt 0.2 ng/mL voor BPA en 0.05 ng/mL voor TBBPA.

Dioxine-achtige stoffen in serum worden gemeten na vetextractie van het serumstaal met vloeistof-vloeistof extractie en clean-up procedures. Vervolgens wordt de activiteit van dioxine-achtige stoffen in serum gemeten met de DR-CALUX[®] assay (BioDetection Systems BV, Amsterdam, The Netherlands) waarbij de *in vitro* activatie van de aryl hydrocarbon receptor (AhR) van H4IIE rat hepatoma cellen wordt gekwantificeerd (Koppen, Covaci et al. 2001). De resultaten worden uitgedrukt in Toxische Equivalenten (TEQ) t.o.v. de meest toxische congener, i.e. 2,3,7,8-TCDD. De detectielimiet bedraagt 0.14 pg Calux-TEQ/mL.

Vetgerelateerde polluenten (PCBs, gechloroerde pesticiden, dioxine-achtige stoffen, PBDEs en HBCD) worden uitgedrukt per hoeveelheid vet. De hoeveelheid **serumvet** wordt gravimetrisch gemeten bij de uitvoer van de Calux assay. Andere polluenten in bloed (BPA, TBBPA, PFOS, PFOA) worden uitgedrukt als concentratie.

- Meting van biomerkers van blootstelling in urine

Urinaire metabolieten van **ftalaten** worden na enzymatische deconjugatie en solid-phase extractie gemeten met "liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry" (LC-MS/MS) (Koch, Gonzalez-Reche et al. 2003). De kwantificatielimiet van de individuele metabolieten varieert tussen 0.5 en 2 µg/L.

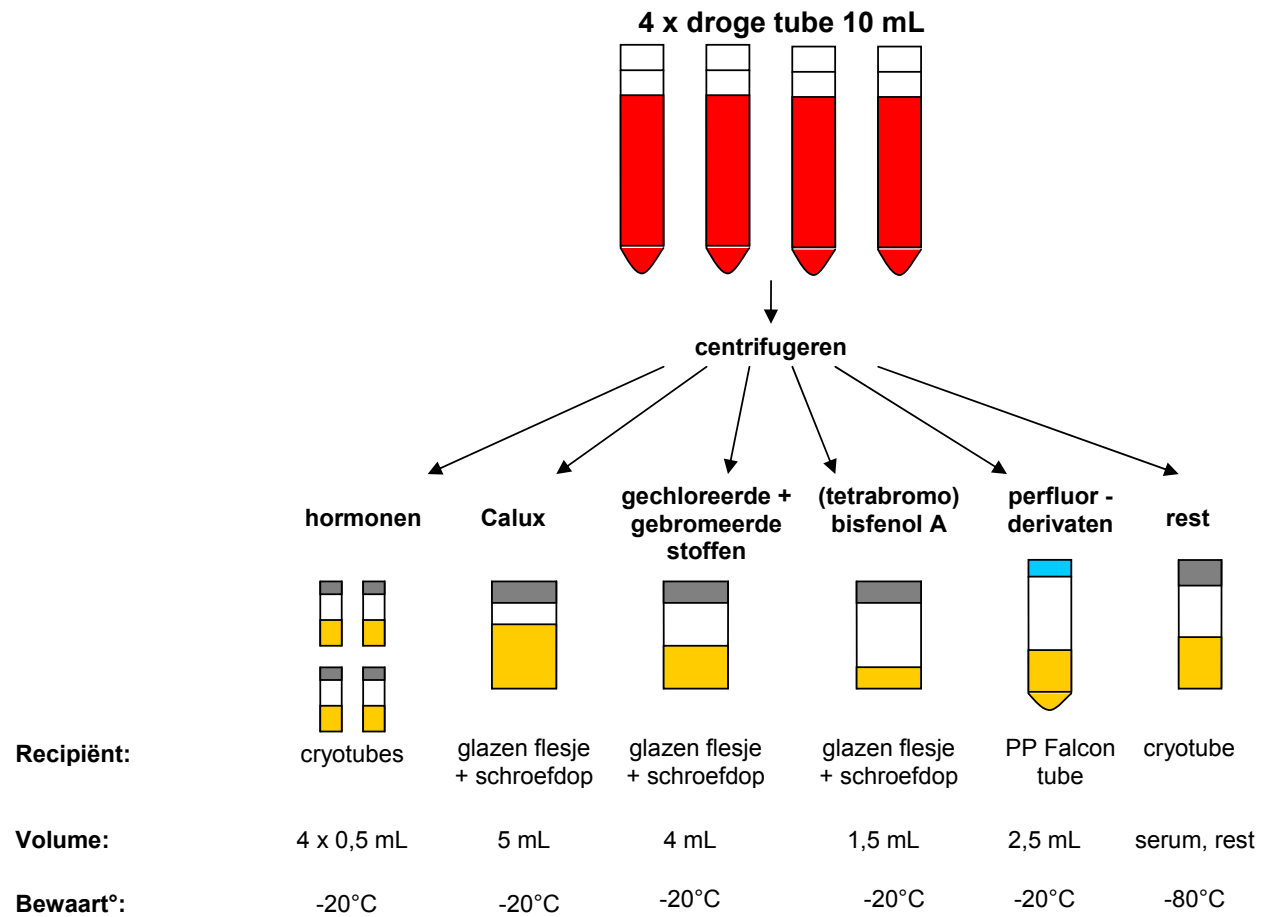
Aangezien urinaire analyses worden uitgevoerd op spot urine, worden resultaten uitgedrukt per gram creatinine. **Creatinine** wordt spectrofotometrisch gemeten volgens de methode van Jaffé (Hervey 1953).

Referenties

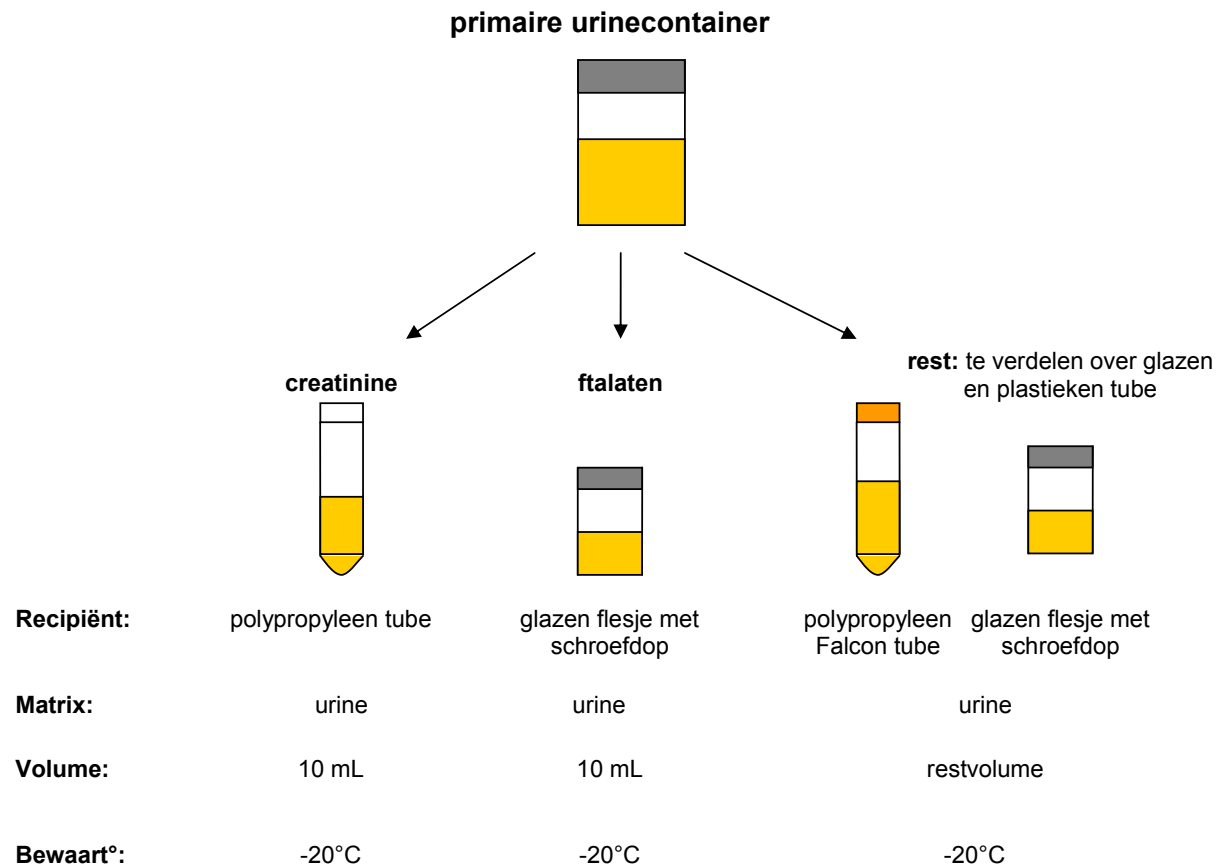
- Covaci, A. and P. Schepens (2001). "Improved determination of selected POPs in human serum by solid phase disk extraction and GC-MS." *Chemosphere* **43**: 439-447.
- Covaci, A. and S. Voorspoels (2005). "Optimization of the determination of polybrominated diphenyl ethers in human serum using solid-phase extraction and gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry." *J Chromatogr B* **827**(216-223).
- Dirtu, A., L. Roosens, et al. (2007). "SPE and GC-ECNI/MS for the determination of bisphenol-A, triclosan, tetrabromobisphenol-A in human serum." *Organohalogen Compounds* **69**: 2995-2998.
- Hervey, G. (1953). "Determination of creatinine by the Jaffé reaction." *Nature* **171**: 1125.
- Koch, H. M., L. M. Gonzalez-Reche, et al. (2003). "On-line clean-up by multidimensional liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry for high throughput quantification of primary and secondary phthalate metabolites in human urine." *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* **784**(1): 169-82.
- Koppen, G., A. Covaci, et al. (2001). "Comparison of CALUX-TEQ values with PCB and PCDD/F measurements in human serum of the Flanders Environmental and Health Study (FLEHS)." *Toxicology Letters* **123**: 59-67.

Appendix 4: Schema voor bloed- en urinecollectie

1. Schema voor bloedname en verdeling van bloed- en serumstalen



2. Schema voor urinecollectie en verdeling van urinestalen



VRAGENLIJST

Biomonitoringscampagne

Steunpunt Milieu en Gezondheid

Mevrouw, Mijnheer,

Wij danken u van harte omdat u wilt meewerken aan dit onderzoek.

Met deze vragenlijst willen we informatie verzamelen over uzelf, uw woon- en werkomgeving, uw gezondheid en uw leefgewoonten. Deze informatie zal ons helpen om de resultaten van het onderzoek beter te kunnen begrijpen en verklaren.

Breng a.u.b. alle papieren mee bij uw volgende consultatie, ook al kon u niet alles invullen. Als sommige onderdelen moeilijk of onduidelijk zijn, kunt u ons bellen.

De vragenlijst krijgt een codenummer en uw antwoorden worden anoniem verwerkt. Uw naam zal in geen enkel rapport of publicatie vermeld worden.

Gelieve een zwarte balpen te gebruiken om de vragenlijst in te vullen. Kleur het bolletje dat bij uw antwoord past, volledig zwart. Indien u het verkeerde bolletje zwart kleurde, kan u dit doorstrepen en een ander bolletje zwart maken. Duid in dit geval het juiste bolletje met een pijltje aan. Soms zijn er ook vakjes waarin u iets moet noteren. Schrijf dan in duidelijke drukletters in het midden van de vakjes.

Het invullen van de vragenlijst duurt ongeveer 20 minuten.

VEEL SUCCES MET HET INVULLEN VAN DE VRAGENLIJST

HARTELIJK DANK VOOR UW MEDEWERKING

Voor bijkomende informatie kan u contact opnemen met:

Elly Den Hond ▪ 014/ 33.52.28 ▪ elly.denhond@vito.be

www.milieu-en-gezondheid.be

A. Algemeen

Geboortedatum: □□ - □□ - □□□□

Geslacht: man vrouw

B. Opleiding

1. Wat is de hoogste school- of beroepsopleiding die u en uw partner voltooiden?

	Uzelf	Uw partner
Geen diploma	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lager onderwijs	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lager onderwijs, technisch of kunstonderwijs (lager BSO, TSO, of BSO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lager algemeen secundair onderwijs (lager ASO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hoger beroepssecundair onderwijs (hoger BSO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hoger technisch secundair onderwijs (hoger TSO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hoger kunstsecundair onderwijs (hoger TSO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hoger algemeen secundair onderwijs (hoger ASO)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hoger onderwijs buiten de universiteit (HOBU)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Universiteit	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ander, namelijk:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

ik heb geen partner

C. Beroep

Wat is uw huidig beroep? (omschrijf zo nauwkeurig mogelijk)

D. Beroeps- en hobbyblootstelling

1. Als u in één van volgende bedrijven werkte in de laatste 10 jaar (als werknemer, werkgever of zelfstandige, niet als jobstudent), vul dan onderstaande tabel in

Soort bedrijf	Waar hebt u gewerkt	Hoe lang hebt u hier gewerkt?	Werkt u hier Momenteel?
1.1 Garage	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.2 Automobielininspectie	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.3 Metaalverwerkende nijverheid	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.4 Houtverwerkende sector	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.5 Papiernijverheid	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.6 Textielnijverheid	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.7 Drukkerij	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.8 Chemische industrie	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.9 Laboratorium	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.10 Voedingsindustrie	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	
1.11 Petroleumindustrie	<input type="radio"/> op de werkvloer	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar	<input type="radio"/> ja
	<input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar	<input type="radio"/> neen
		<input type="radio"/> meer dan 5 jaar	

vervolg van deze vraag op volgende pagina

1.12 Rubber of plastic nijverheid	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.13 Afvalverbrandings- oven	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.14 Hoogoven	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.15 Vervoerssector vb buschauffeur, taxichauffeur...	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.16 Uitvoeren van schilderwerken	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.17 Bouwsector	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen
1.18 Landbouwsector	<input type="radio"/> op de werkvloer <input type="radio"/> op kantoor (apart van de werkvloer)	<input type="radio"/> minder dan 2 jaar <input type="radio"/> tussen 2 en 5 jaar <input type="radio"/> meer dan 5 jaar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> neen

1.19 ik werkte in geen van bovenstaande bedrijven

2. Kwam u door uw beroep, tijdens uw hobby of bij het klussen wekelijks en gedurende een opeenvolgende periode van minstens 1 jaar in contact met producten in onderstaande tabel? Denk hierbij aan de afgelopen 10 jaar.

nee, ik kom bij het uitoefenen van mijn beroep of hobby's niet vaak in contact met chemische producten

ja, ik kom regelmatig (minstens 1 keer per week gedurende minstens 1 jaar) in contact met:

- 2.1 scheikundige producten
- 2.1 pesticiden, houtbewaarmiddelen
- 2.3 uitlaatgassen (motorcross, garage, buschauffeur, taxichauffeur,...)
- 2.4 kleurstoffen, verven of oplosmiddelen (thinner, lijm,...)
- 2.5 haarverzorgingsproducten (NIET: shampoo of lotion; WEL: bleekmiddel, kleuringsproduct,...)

E. Rookgedrag

1. Rookt u?

- nee, ik heb nooit gerookt (ga naar vraag 5)
- nee, ik heb vroeger gerookt, maar ik ben gestopt (ga naar vraag 3)
- ja, ik rook minder dan 1 keer per maand
- ja, ik rook minstens 1 keer per maand maar niet elke week
- ja, ik rook minstens 1 keer per week maar niet elke dag
- ja, ik rook elke dag

2. Hoeveel rookt u? Ik rook gemiddeld sigaretten per week

3. Hoe lang heeft u in totaal gerookt? (tel alle periodes op)

ik heb in totaal weken, maanden, jaren gerookt

4. Als u gestopt bent met roken, hoe lang geleden bent u gestopt?

Ik ben weken, maanden, jaren geleden gestopt met roken

5. Hoeveel uur bent u in een gemiddelde week in aanwezigheid van mensen die roken?

Ik ben uren per week in aanwezigheid van mensen die roken

F. Gebruik van alcoholische dranken

1. Drinkt u (soms) alcoholhoudende dranken?

- nee, ik heb nog nooit alcohol gedronken (ga naar deel K)
- nee, vroeger wel, maar niet in de afgelopen 2 jaar
- ja, minder dan 1 keer per maand
- ja, minstens 1 keer per maand, maar niet elke week
- ja, minstens 1 keer per week, maar niet elke dag
- ja, elke dag

2. Heeft u ooit op één dag 6 of meer glazen (eventueel verschillende) alcoholische drank gedronken?

- nee (ga naar deel G)
- ja

3. Hoe vaak heeft u op één dag 6 of meer glazen (eventueel verschillende) alcoholische drank gedronken?
- ooit maar nu niet meer
 - minder dan 1 keer per maand
 - minstens 1 keer per maand, maar niet elke week
 - minstens 1 keer per week, maar niet elke dag
 - elke dag

G. Lichaamsbeweging

1. Hoeveel uren per week doet u **lichte fysieke activiteiten** als vrijetijdsbesteding (bijv. wandelen, recreatief fietsen, ...)?
- aantal uren per week
2. Hoeveel uren per week doet u een **zware fysieke activiteit** waarvan u bezweet of buiten adem raakt als vrijetijdsbesteding (bijv. hardlopen, wielrennen, voetbal, volleybal, ...)?
- aantal uren per week
3. Hoeveel uren per week doet u een **zware fysieke activiteit** waarvan u bezweet of buiten adem raakt **in uw job**?
- aantal uren per week

H. Voeding

Denk bij het invullen van deze vragenlijst aan uw gemiddeld eetpatroon van het voorbije jaar

1. Hoe vaak drinkt u koffie?

- nooit
- minder dan 1 tas per maand
- 1-3 tassen per maand
- 1 tas per week
- 2 - 4 tassen per week
- 5 - 6 tassen per week
- 1 tas per dag
- 2-3 tassen per dag
- 4 of meer tassen per dag

2. Hoe vaak drinkt u thee?

(geen kruidenthee)

- nooit
- minder dan 1 tas per maand
- 1-3 tassen per maand
- 1 tas per week
- 2 - 4 tassen per week
- 5 - 6 tassen per week
- 1 tas per dag
- 2-3 tassen per dag
- 4 of meer tassen per dag

3. Hoe vaak drinkt u cola

- nooit
- minder dan 1 glas per maand
- 1-3 glazen per maand
- 1 glas per week
- 2 - 4 glazen per week
- 5 - 6 glazen per week
- 1 glas per dag
- 2-3 glazen per dag
- 4 of meer tassen per dag

4. Hoe vaak drinkt u melk of chocomelk (bij het ontbijt, bij cornflakes of muesli tussendoor,...?)

- nooit
- minder dan 1 tas per maand
- 1-3 tassen per maand
- 1 tas per week
- 2 - 4 tassen per week
- 5 - 6 tassen per week
- 1 tas per dag
- 2-3 tassen per dag
- 4 of meer tassen per dag

5. Hoe vaak eet u yoghurt, platte kaas, rijstpap of pudding?
1 portie = 1 potje of ongeveer 125 g

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2-3 porties per dag
- 4 of meer porties per dag

6. Hoe vaak eet u groenten?
1 portie = ongeveer 150 g
1 (rauwe) tomaat of 5 eetlepels bereide groenten,...

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2-3 porties per dag
- 4 of meer porties per dag

7. Hoe vaak eet u fruit?

1 portie = 1 appel of 1 banaan of 1 peer of 1 kiwi of 2 mandarijntjes of.....

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2-3 porties per dag
- 4 of meer porties per dag

8. Hoe vaak eet u eieren?

bij het ontbijt, op een belegd broodje , bij een koude schotel,.....

- nooit
- minder dan 1 ei per maand
- 1-3 eieren per maand
- 1 ei per week
- 2 - 4 eieren per week
- 5 - 6 eieren per week
- 1 ei per dag
- 2-3 eieren per dag
- 4 of meer eieren per dag

ONTBIJT en / of ander BROODMAALTIJDEN

9. Hoe vaak eet u boterhammen met kaas (smeerkaas, jonge kaas, Franse kazen,...) bij het ontbijt en / of ander broodmaaltijden?

- nooit
- minder dan 1 boterham per maand
- 1-3 boterhammen per maand
- 1 boterham per week
- 2 - 4 boterhammen per week
- 5 - 6 boterhammen per week
- 1 boterham per dag
- 2-3 boterhammen per dag
- 4 of meer boterhammen per dag

10. Hoe vaak eet u boterhammen met vlees (hesp, salami, paté, américain préparé,...) bij het ontbijt en / of ander broodmaaltijden?

- nooit
- minder dan 1 boterham per maand
- 1-3 boterhammen per maand
- 1 boterham per week
- 2 - 4 boterhammen per week
- 5 - 6 boterhammen per week
- 1 boterham per dag
- 2-3 boterhammen per dag
- 4 of meer boterhammen per dag

11. Hoe vaak eet u boterhammen met vis (uit blik, gerookte vis, vissalade, krabsalade,...) bij het ontbijt en / of ander broodmaaltijden?

- nooit
- minder dan 1 boterham per maand
- 1-3 boterhammen per maand
- 1 boterham per week
- 2 - 4 boterhammen per week
- 5 - 6 boterhammen per week
- 1 boterham per dag
- 2-3 boterhammen per dag
- 4 of meer boterhammen per dag

WARME MAALTIJDEN

**13. Hoe vaak eet u vlees (kip, varken, rund schaap, wild,...) bij de warme maaltijd?
1 portie = ongeveer 150 g
vb. 1 varkenskotelet, 1 enkele kippenfilet,...**

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2 of meer porties per dag

**15. Hoe vaak eet u vegetarische producten (tofu, tempeh, quorn,...) bij de warme maaltijd?
1 portie = ongeveer 100 g
vb. een gepaneerde quornfilet,...**

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2 of meer porties per dag

**12. Welke vetstof gebruikt u gewoonlijk voor het besmeren van brood?
U mag meer dan 1 antwoord aankruisen**

- niets
- minarine - margarine
- halfvolle boter (vb. balade)
- echte boter (vb. melkerijboter, hoeveboter,...)
- ander: nl. _____

**14. Hoe vaak eet u vis (kabeljauw, zalm, fish stick, scampi,...) bij de warme maaltijd?
1 portie = ongeveer 150 g
vb. 1 zalmoot, 5 fish sticks, 10-14 scampi's,...**

- nooit
- minder dan 1 portie per maand
- 1-3 porties per maand
- 1 portie per week
- 2 - 4 porties per week
- 5 - 6 porties per week
- 1 portie per dag
- 2 of meer porties per dag

**16. Welke vetstof gebruikt u gewoonlijk voor de bereiding van warme maaltijden?
U mag meer dan 1 antwoord aankruisen**

- olie
- bak- en braadvet
- 'echte boter'

I. Zelf gekweekte producten

Volgende vragen gaan over het consumeren van **zelfgekweekte voeding**. Dit zijn producten die u zelf kweekt voor eigen consumptie of die u op regelmatige basis krijgt van buren, vrienden of familie die deze producten zelf kweekt.

Denk hierbij aan uw eetgewoonten van het voorbije jaar.

1. Hoe vaak zijn de eieren die u eet, afkomstig van uw eigen kippen of van kippen van buren, vrienden of familie?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

2. Hoe vaak is het vlees (kip, varken, rund) dat u eet, afkomstig van eigen kweek of van buren, vrienden of familie?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

3. Hoe vaak eet u zelfgevangen vis (door u gevangen of door buren, vrienden of familie)?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

3.1 Indien u zelfgevangen vis eet, over welke soort vis gaat het meestal?

(u mag meerdere antwoorden aankruisen)

- zeevis zoetwatervis uit rivier zoetwatervis uit vijver

3. Hoe vaak zijn de aardappelen dat u eet, afkomstig van eigen kweek of van buren, vrienden of familie?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

4. Hoe vaak zijn de groenten dat u eet, afkomstig van eigen kweek of van buren, vrienden of familie?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

5. Hoe vaak is het fruit dat u eet, afkomstig van eigen kweek of van buren, vrienden of familie?

- nooit af en toe (minder dan de helft) vaak (ongeveer de helft of meer) altijd

J. Gezondheid

1. Lengte en gewicht

Wat is uw huidige lengte? _____ cm

Wat is uw huidig gewicht? _____ kg

2. Is uw gewicht in de laatste 5 jaar veranderd?

- nee, mijn gewicht is stabiel gebleven
- ja, ik ben _____ kg verdikt
- ja, ik ben _____ kg vermagerd
- ja, ik ben afwisselend verdikt en vermagerd,
namelijk _____ kg verdikt en _____ kg vermagerd

3. Heeft u een langdurige ziekte of aandoening? nee ja

4. Indien ja, welke ziekte?

	neen	ja
4.1 Schildklierprobleem	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.2 Diabetes	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.3 Chronisch vermoeidheidssyndroom (CVS)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.4 Hoge bloeddruk	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.5 Eetstoornis (anorexia, boulemie,...)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.6 Migraine of ernstige hoofdpijn	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.7 Andere, namelijk: _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

5. Neemt u volgende medicatie?

	neen	ja
5.1 Cholesterolverlagers	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.2 Slaap- of kalmeermiddelen	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5.3 Anti-depressiva	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
4.7 Andere, namelijk: _____	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

6. Gebruikte u ooit één van volgende vormen van contraceptie?

	neen	ja	Indien ja, hoe lang? (tel alle perioden samen)
1.1 Anticonceptiepil ("de pil")	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.2 Minipil	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.3 Prikpil	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.4 Spiraaltje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.5 Hormonenspiraaltje (bv. Mirena)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.6 Vaginale ring (bv. Nuvaring)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken
1.7 Hormonenimplantaat (bv. Implanon)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> weken

K. Zwangerschap en miskraam

1. Had u ooit een miskraam of een zwangerschapsonderbreking? neen ja

Indien ja, vul aan:

	Jaar	Tijd om zwanger te worden (*)	Duur van de zwangerschap	Reden van zwangerschapsbeëindiging
1.	<input type="text"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> jaren <input type="checkbox"/> ik weet het niet meer	<input type="text"/> weken	<input type="checkbox"/> Doodgeboren kindje <input type="checkbox"/> Spontane miskraam <input type="checkbox"/> Abortus om medische reden <input type="checkbox"/> Andere zwangerschapsbeëindiging
2.	<input type="text"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> jaren <input type="checkbox"/> ik weet het niet meer	<input type="text"/> weken	<input type="checkbox"/> Doodgeboren kindje <input type="checkbox"/> Spontane miskraam <input type="checkbox"/> Abortus om medische reden <input type="checkbox"/> Andere zwangerschapsbeëindiging
3.	<input type="text"/>	<input type="text"/> maanden <input type="text"/> jaren <input type="checkbox"/> ik weet het niet meer	<input type="text"/> weken	<input type="checkbox"/> Doodgeboren kindje <input type="checkbox"/> Spontane miskraam <input type="checkbox"/> Abortus om medische reden <input type="checkbox"/> Andere zwangerschapsbeëindiging

(*) Tijd om zwanger te worden: vul in hoeveel tijd er verliep tussen het moment dat u besliste dat u een kind wilde en het moment dat u zwanger werd. Voorbeeld: u stopte als koppel met het gebruik van voorbehoedsmiddelen en 6 maanden later was u zwanger. Dan vult u 6 maanden en 0 jaren in. Indien u onverwachts zwanger was, of indien u vanaf de eerste maand zwanger was, vult u 0 maanden en 0 jaren in.

HARTELIJK DANK VOOR HET INVULLEN VAN DE VRAGENLIJST!