

## Bijlage 2 – Beschrijving van effectmerkers

### 1. Effectmerkers astma en allergie: definities

#### Astma (algemene vragenlijst)

##### **ASTMA:**

Huidig astma. 'Current asthma': definitie volgens European Community Health Respiratory Survey, (ECHRS): positief, indien positief geantwoord op één van volgende vragen:

- Laatste 12m astma aanvallen (Q06, J06, Q06)
- Laatste 12m geneesmiddelen voor astma (Q07, J07, Q07)
- Laatste 12m wakker geworden door aanval van kortademigheid (Q03, J03, Q03)
- Laatste 12m wakker geworden met een gevoel van beklemming in de borstkas (Q02, J02, Q02).

##### **ASTMA, diagnose arts:**

'Doctor diagnosed' astma. Positief, indien positief geantwoord op volgende vraag:

- Ooit astma gehad, bevestigd door een arts (Q05, J05, Q05)

##### **ASTMA, laatste 12 maanden:**

Ooit astma. Positief, indien positief geantwoord op een van volgende vragen:

- Laatste 12m astma aanvallen (Q06, J06, Q06)
- Laatste 12m geneesmiddelen voor astma (Q07, J07, Q07)
- Laatste 12m wakker geworden door aanval van kortademigheid (Q03, J03, Q03)
- Laatste 12m wakker geworden met een gevoel van beklemming in de borstkas (Q02, J02, Q02).
- Laatste 12m last van piepen of fluiten in borstkas (Q01, J01, Q01) gecombineerd met kortademigheid (Q0101, J0101, Q0101) en voorkomen buiten periode van verkoudheid (Q0102, J0102, Q0102)
- Ooit astma gehad, bevestigd door een arts (Q05, J05, Q05)
- Ooit beklemming of piepende ademhaling tijdens het op het werk/school zijn (Q17, J17, Q17).

#### Allergie (uit algemene vragenlijst)

##### **HOOIKOORTS, diagnose arts:**

Hooikoorts. Positief, indien positief geantwoord op een van volgende vragen:

- Enige vorm van neusallergie/hooikoorts (Q09, J09, Q09)

##### **HOOIKOORTS:**

Hooikoorts. Positief, indien positief geantwoord op een van volgende vragen:

- Enige vorm van neusallergie/hooikoorts (Q09, J09, Q09)
- Laatste 12 m last gehad van enige vorm van neusallergie/hooikoorts (Q10, J10, Q10)
- Laatste 12 m geneesmiddelen tegen hooikoorts, neusklachten (Q11, J11, Q11)

**ECZEEM:**

Eczeem in de laatste twaalf maanden.

- Laatste 12 m eczeem gehad (Q14, J14, Q14)
- Laatste 12m geneesmiddelen tegen eczeem genomen (Q15, J15, Q15)

**ALLERGIE voor voedingsmiddelen, geneesmiddelen of insectenbeten:**

Allergie voor voedsel, insecten of geneesmiddelen. Positief, indien positief geantwoord op een van de volgende vragen:

- Allergie of huiduitslag na contact met voedingsmiddelen (pinda, chocolade, tomaten, aardbeien,...) (Q19, J19, Q19)
- Allergie of huiduitslag na contact met insectenbeten (Q21, J21, Q21)
- Allergie of huiduitslag na contact met geneesmiddelen (Q23, J23, Q23)

**ALLERGIE voor metaal, verzorgingsproducten, huishoud- en onderhoudsproducten:**

Huidallergie. Positief, indien positief geantwoord op een van de volgende vragen:

- Allergie of huiduitslag na contact met metaal (piercing, ooring, metalen juweel,..) (Q20, J20, Q20)
- Allergie of huiduitslag na contact met verzorgingsproducten (make-up, crèmes, parfum,..) (Q24, J24, Q24)
- Allergie of huiduitslag na contact met huishoud- en onderhoudsproducten (afwasmiddel, waspoeder, wasverzachter , zeep,...) (Q25, J25, Q25)

**ALLERGIE voor dieren:**

Dierenallergie. Positief, indien positief geantwoord op volgende vraag:

- Allergie of huiduitslag na contact met huisdier (kat, hond, konijn,...) (Q22, J22, Q22)
- Ooit huisdier weggedaan omdat u er allergisch aan was (Q18, J18, Q18)

## 2. Effectmarkers - genotoxiciteitsmarkers: beschrijving van de meting

### Overzicht genotoxiciteitsmarkers:

Volgende genotoxiciteitstesten worden uitgevoerd:

- 'klassieke' komeetttest: % DNA schade - op volbloed van jongeren;
- Komeetttest met en zonder fpg enzymen: % DNA schade als maat voor oxidatieve stress – volbloed van jongeren;
- 8-hydroxydeoxyguanosine (8-oxodG) in urine van jongeren.

### Verantwoordelijk laboratorium:

Vito, afdeling milieutoxicologie (Dr. G. Koppen)

### Methodologie:

#### A. KOMEETTEST

Bij de komeetttest worden bloedcellen vermengd met een gel, gespreid op een plastic film en vervolgens gelyseerd in een detergent- en zoutoplossing. In deze oplossing wordt de celmembraan afgebroken en oplosbare celcomponenten en histonen (eiwitten op het DNA) verwijderd. Resultaat is supercoiled DNA vastgehecht aan de nucleaire matrix. Na een incubatie in alkalische oplossing volgt een elektroforese, waarbij DNA 'loops' die een breuk bevatten, naar de positieve pool migreren. Na kleuring en visualisatie met een fluorescentiemicroscopie ziet de kern eruit als een komeet, met de relatieve hoeveelheid DNA in de staart (% DNA migratie), indicatief voor het aantal breuken in het DNA (enkelstrengige en dubbelstrengige, naast breuken veroorzaakt tijdens DNA herstel en in delende cellen ook breuken t.g.v. het replicatieproces). De DNA breuken die worden gedetecteerd in de alkalische komeetttest omvatten ook breuken ontstaan in de alkalische oplossing ter hoogte van zones waar een DNA base ontbreekt (apurinic/aprimidinic of AP sites). In de huidige studie werden 300 cellen gescoord met het automatische beeldanalysestelsel (Metafer 3.5, Metasystems) verbonden aan de fluorescentiemicroscopie. Na manuele uitzuivering van de foutief gemeten cellen werd een mediaan **% DNA migratie** berekend voor elk individu.

#### B. KOMEETTEST MET EN ZONDER FPG ENZYMEN

DNA breuken zijn niet de belangrijkste vorm van schade aan het DNA, vaker zijn er modificaties van DNA basen aanwezig. Bij de komeetttest kunnen specifieke enzymen gebruikt worden die bepaalde gemodificeerde basen uitknippen. Het FPG enzyme wordt gebruikt om geoxideerde purinebasen te detecteren (8-oxoGua, FaPyAde, FaPyGua, naast gealkyleerde basen zoals N7-methylGua). Aldus, kan de komeetttest gebruikt worden om geoxideerd DNA te detecteren. Hiervoor wordt de enzymebehandeling uitgevoerd na lysis van de cellen. Het (in de huidige studie gebruikte) FPG enzyme verwijdert de foutieve base uit het DNA (glycosylase) en knipt de DNA streng door op die plaats (lyase). Hierdoor ontstaan extra breuken en een verhoogde migratie van het DNA in het elektrisch veld. **Het verschil in % DNA migratie met en zonder incubatie met FPG enzyme, is een maat voor oxidatief beschadigd DNA.**

#### C. 8-HYDROXYDEOXYGUANOSINE IN URINE

8-hydroxydeoxyguanosine (8-oxodG) wordt gemeten door middel van een competitieve *in vitro* immunosorbent assay (ELISA) voor kwantitatieve detectie van 8-oxodG, geschikt voor serum, urine, plasma en andere biologische weefsels (Gentaur, België). De intra- en inter-assay variatie is kleiner dan 15%.

### **3. Effectmerkers voor groei en ontwikkeling bij pasgeborenen: beschrijving**

Volgende parameters werden door de studieverpleegsters overgenomen uit het patiëntendossier van de kraamkliniek:

- Geboortegewicht (kg)
- Lengte bij de geboorte (cm)
- Schedelomtrek bij de geboorte (cm)
- Zwangerschapsduur (weken)

#### 4. Effectmarkers - endocriene markers: schildklierhormonen

##### Overzicht markers:

Schildklierhormonen (TSH, fT3, fT4) werden gemeten in navelstrengbloed (plasma) van de pasgeborenen en in perifere bloed (serum) van de jongeren.

##### Verantwoordelijk laboratorium:

Universiteit Gent, lab. andrologie

Contactpersonen: Prof. J-M Kaufman, Dr. A. Mahmoud

##### Methodologie:

###### A. BEPALING VAN TSH

De basis voor deze test is het sandwich principe. In een eerste fase wordt 50 µl serumstaal geïncubeerd met twee verschillende TSH-specifieke antilichamen: één ervan gelabeld met biotine, het andere met een rutheniumcomplex. Vervolgens worden micropartikels gecoat met streptavidine toegevoegd. De TSH-antilichaam-biotine fractie wordt aan de vaste fase gebonden via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervlakte van een electrode. De ongebonden fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell (KOH + detergentoplossing). De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve).

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser: Modular E170 (T0470)

De aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 0,02 mIU/L.

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

###### B. BEPALING VAN FT4

Het basisprincipe voor deze methode is een 2-stappen competitieve immuno-assay techniek. Eerst wordt 15 µl staal geïncubeerd met een T4 - antilichaam gemerkt met een rutheniumcomplex. Vervolgens wordt aan biotine gekoppeld T4 en micropartikels gecoat met streptavidine toegevoegd. De nog vrije bindingsplaatsen op het antilichaam worden nu bezet en er wordt een antilichaam-hapteencomplex gevormd. Het ganse complex wordt aan de vaste fase gebonden via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervlakte van een electrode. De ongebonden fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell (KOH + detergentoplossing). De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve).

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser: Modular E170 (T0470).

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

### C. BEPALING VAN FT3

Het basisprincipe voor deze methode is een 2-stappen competitieve immuno-assay techniek. Eerst wordt 15µl staal geïncubeerd met een T3 - antilichaam gemerkt met een rutheniumcomplex.. Vervolgens wordt aan biotine gekoppeld T3 en micropartikels gecoat met streptavidine toegevoegd. De nog vrije bindingsplaatsen op het antilichaam worden nu bezet en er wordt een antilichaam-hapteencomplex gevormd. Het ganse complex wordt aan de vaste fase gebonden via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervakte van een electrode. De ongebonden fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell ( KOH + detergentoplossing) De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve)

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser Modular E170 (T0470).

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

## 5. Effectmarkers - endocriene markers: sex hormonen

### Overzicht markers:

Sex hormonen (testosteron, oestradiol, SHBG, LH, FSH) werden gemeten in navelstrengbloed (plasma) van de pasgeborenen en in perifereer bloed (serum) van de jongens in de jongerenstudie.

Bij jongeren werd vrij testosteron, vrij oestradiol en aromatase index berekend. Bij pasgeborenen is er geen referentiekader voor deze berekeningen.

Bij jongeren werd voor testosteron en voor vrij testosteron het % jongens berekend dat de ondergrens van de normale range voor volwassenen bereikt heeft. Voor testosteron is de ondergrens = 321 ng/dL; voor vrij testosteron is de ondergrens = 6 ng/dL.

### Verantwoordelijk laboratorium:

Universiteit Gent, lab. andrologie

Contactpersonen: Prof. J-M Kaufman, Dr. A. Mahmoud

### Methodologie:

#### A. BEPALING VAN TOTAAL TESTOSTERON EN VRIJ TESTOSTERON

**Totaal testosteron.** Het principe van de test, een radioimmuno-assay van Orion Diagnostics, is gebaseerd op een competitie tussen het ongemerkt product (onbekende of standaard) en een bepaalde hoeveelheid gemerkt  $^{125}$ I-testosteron voor een beperkt aantal bindingsplaatsen van het antilichaam (gecoate buizen). Na incubatie wordt de vrije fractie van de gebonden fractie gescheiden door afgieten van de vloeistof, de gebonden fractie wordt gemeten. De competitie veroorzaakt door onbekende concentraties in de stalen, zal vergeleken worden met deze veroorzaakt door standaarden met gekende concentraties. De gemeten radioactiviteit kan uitgezet worden tegenover de concentratie standaard; met behulp van deze standaardcurve worden de concentraties van de onbekende stalen afgeleid uit de hoeveelheid gemeten radioactiviteit voor die onbekende stalen.

Aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 10 ng/dL.

Kwaliteitscontroles: bindingsanalyse SKML (LWBA) / Bio-RAD Laboratories EQAS.

**Vrij testosteron:** evenwichtsberekening aan de hand van SHBG en testosteron waarden.

#### B. BEPALING VAN TOTAAL OESTRADIOL EN VRIJ OESTRADIOL

**Totaal oestradiol.** Het basisprincipe voor deze methode is een 2-stappen competitieve immuno-assay techniek. Eerst wordt 35  $\mu$ L staal geïncubeerd met een aan biotine gebonden oestradiol-specifiek antilichaam. Hierbij wordt een immuuncomplex gevormd waarvan de hoeveelheid afhankelijk is van de concentratie analyt in het staal. Vervolgens worden micropartikels gecoat met streptavidine en een ruthenium gelabeld oestradiolderivaat complex toegevoegd. De nog beschikbare plaatsen op de biotine gebonden antilichamen worden ingenomen met vorming van een antilichaam-hapteen complex. Dit complex wordt gebonden aan een vaste fase via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervlakte van een electrode. De ongebonden fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell (KOH +

detergentoplossing). De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve).

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser Modular E170 (T0470) en Cobas 6000 (T0080).

De aantoonbaarheidsgrens (LOD) voor totaal oestradiol bedraagt 12 pg/mL.

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

**Vrij oestradiol:** evenwichtsberekening aan de hand van SHBG, E2, testosteron waarden

### C. BEPALING VAN SHBG

Het principe van de test is een niet-competitieve immunoradiometric assay (IRMA) van Orion Diagnostics. Verdunde serum stalen, standaarden en controles worden toegevoegd aan een buis gecoat met een mengsel van twee monoklonale muis antilichaam tegen humaan SHBG. Vervolgens wordt gemerkt  $^{125}$  SHBG muis monoklonaal antilichaam toegevoegd. Na incubatie 3uur bij 37°C wordt de vrije fractie van de gebonden fractie gescheiden door afgieten van de vloeistof gevolgd door een wasstap. De gebonden fractie wordt gemeten. De tellingen veroorzaakt door onbekende concentraties in de stalen, zal vergeleken worden met deze veroorzaakt door standaarden met gekende concentraties. De gemeten radioactiviteit kan uitgezet worden tegenover de concentratie standaard; met behulp van deze standaardcurve worden de concentraties van de onbekende stalen afgeleid uit de hoeveelheid gemeten radioactiviteit voor die onbekende stalen.

Aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 0,1 nmol/L.

Kwaliteitscontroles: Bindingsanalyse SKML (LWBA) / Bio-RAD Laboratories EQAS.

### D. BEPALING VAN LH

De basis voor deze test is het sandwich principe. In een eerste fase wordt 20 µl serumstaal geïncubeerd met twee verschillende LH-specifieke antilichamen: één ervan gelabeld met biotine, het andere met een rutheniumcomplex. Vervolgens worden micropartikels gecoat met streptavidine toegevoegd. De LH-antilichaam-biotine fractie wordt aan de vaste fase gebonden via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervakte van een electrode. De ongebonden fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell (KOH + detergentoplossing). De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve)

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser: Modular E170 (OT470) en Cobas 6000 (T0080).

Aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 0,1 mIU/mL.

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

### E. BEPALING VAN FSH

De basis voor deze test is het sandwich principe. In een eerste fase wordt 40 µl serumstaal geïncubeerd met twee verschillende FSH-specifieke antilichamen: één ervan gelabeld met biotine, het andere met een rutheniumcomplex. Vervolgens worden micropartikels gecoat met streptavidine toegevoegd. De FSH-antilichaam-biotine fractie wordt aan de vaste fase gebonden via de interactie biotine-streptavidine. Het reactiemengsel wordt afgezogen naar de meetcel waar de partikels magnetisch worden vastgehouden op de oppervakte van een electrode. De ongebonden

fracties worden verwijderd met ProCell (tripropylamine in fosfaatbuffer). Door het aanleggen van een spanning op de electrode wordt de chemiluminescentie geïnduceerd. De lichtemissie wordt gemeten in een fotomultiplier. Vervolgens wordt de meetcel nagespoeld met CleanCell (KOH + detergentoplossing). De resultaten worden bekomen via een calibratiecurve (calibratie t.o.v. mastercurve)

De praktische implementatie hiervan gebeurt op een autoanalyser: Modular E170 (T0470).

Aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 0,1 mIU/mL.

Kwaliteitscontroles: Bio-RAD Laboratories EQAS.

## 6. Effectmarkers - endocriene markers: metabole hormonen

### **Overzicht markers:**

Leptine en insuline werden gemeten in navelstrengbloed (plasma) van de pasgeborenen.

### **Verantwoordelijk laboratorium:**

AML, Antwerpen

Contactpersonen: Michel Stalpaert

### **Methodologie:**

Leptine in plasma van navelstrengbloed wordt gemeten door middel van een ELISA (DSLabs). De detectielimiet bedraagt 0,05 ng/mL.

Voor de meting van insuline in navelstrengbloed moet het plasma binnen de 6 uur worden ingevroren. Insuline wordt gemeten door middel van een RIA. De detectielimiet bedraagt 0,03 nmol/L. De meting gebeurt onder BELAC accreditatie.

## 7. Effectmerkers - endocriene merkers: puberteitsontwikkeling

### LEEFTIJD MENARCHE (meisjes)

Op basis van vraag uit vragenlijst (vraag K1-K2):

- Heb je al maandstonden (menstruele bloedingen) gehad?       ja     neen
- Indien ja, wanneer kreeg je voor het eerst je maandstonden?    maand: .....    jaar: .....

### PUBERTEITSSTADIA

De puberteitsstadia worden standaard geregistreerd door de schoolarts van het Centrum voor Leerlingenbegeleiding (CLB). Alle jongeren in het 3<sup>e</sup> jaar secundair onderwijs krijgen een verplicht onderzoek bij de schoolarts.

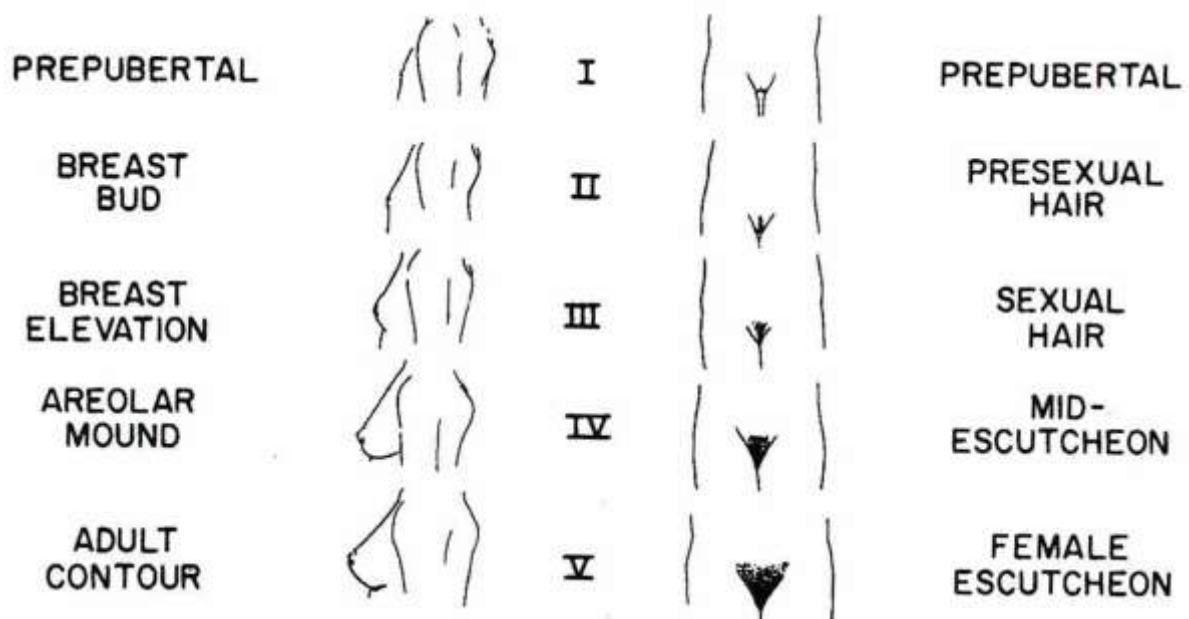
De gegevens van de deelnemers uit de biomonitoringstudie werden opgevraagd bij de verschillende CLB's. Enkel de data van het schoolonderzoek dat gebeurde in hetzelfde schooljaar waarin de biomonitoringscampagne werd uitgevoerd, werden meegenomen in de analyse. Naast puberteitsstadia werden ook lengte en gewicht van de deelnemer op het moment van het schoolonderzoek opgevraagd.

De puberteitsstadia zijn gebaseerd op de methode van Marshall & Tanner.

#### 1. Meisjes

Voor **meisjes** worden volgende stadia gerapporteerd:

- **borstontwikkeling:** score B1 tot en met B5
- **pubisbehairing:** score P1 tot en met P5



Referentie: Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in girls. Arch Dis Child 44:291-303 (1969).

De chronologie van de stadia voor meisjes en de leeftijdsrange worden gegeven in Tabel 1.

Tabel 1: Chronologische volgorde en beschrijving van de stadia van Tanner in de puberteitsontwikkeling van meisjes, leeftijd waarop ieder stadium bereikt wordt volgens Tanner en vergelijking met Vlaamse groeistudie 2004. M: borstontwikkeling; P: pubisbehaving.

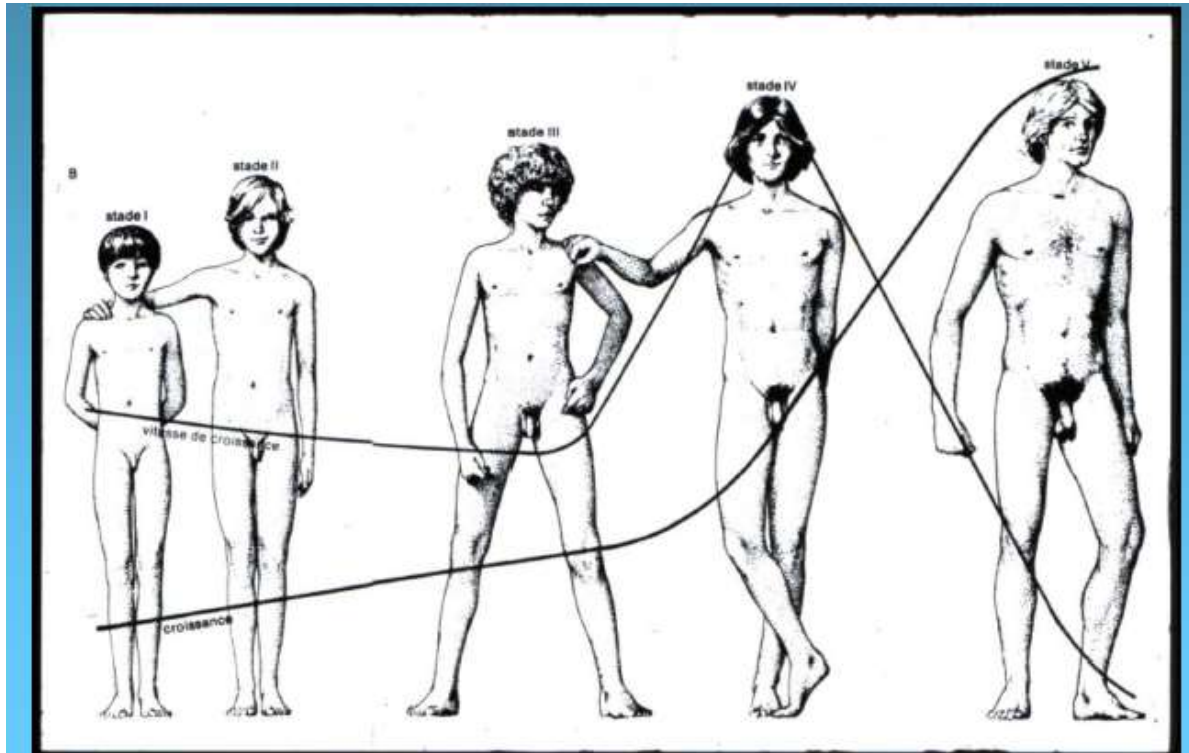
Stadium	Beschrijving	Leeftijd (gem.± 2SD)	Vlaamse groeistudie
M1, P1	Prepubertaire toestand		
M2	Knopvormige verheffing van de areola en vergroting diameter areola ("budding")	11.15 ± 2.10	10.65
P2	Nog weinig gepigmenteerde pubisbehaving, vnl. langs de labia majora	11.69 ± 2.42	10.94
PHV	"Peak height velocity" (x = 9 cm/j)(6.2 – 11 cm/j)	12.14 ± 1.60	10.9
M3	Verdere vergroting van de borst en vergroting van de areola in het vlak van de borstwelving; eerste duidelijke mamma-vorm	12.15 ± 2.18	11.78
P3	Eerste donkere, duidelijk gepigmenteerde en gekrulde pubisharen, op de labia majora en mons veneris; pubisbehaving is denser	12.36 ± 2.20	11.85
P4	Volwassen dichtheid van de pubisbehaving, maar nog beperkt qua oppervlakte	12.95 ± 2.12	12.74
M4	Vergroting borstklier; areola en tepel vormen een afzonderlijke verhevenheid boven het niveau van de rest van de borst (best zichtbaar in profiel)	13.11 ± 2.20	12.82
Menarche	Eerste menstruele bloeding	13.47 ± 2.04	13.04
P5	Volwassen patroon van de pubisbehaving; driehoekvormig; bovengrens aan craniale rand der pubisstreek; uitbreiding in de breedte, overschrijden van de liesplooien	14.41 ± 2.24	14.55
M5	Volwassen borstklier; enkel tepel nog verheven terwijl areola terug in borstwelving opgenomen	15.33 ± 3.48	14.80

Bron: Eindwerk Kristin Van de moortel. "Evaluatie van de praktische toepassing van de standaard groei en pubertaire ontwikkeling in de centra voor Leerlingenbegeleiding. Evaluatie van de richtlijn 'late of vertraagde puberteit'." Interuniversitaire GGS-opleiding Jeugdgezondheidszorg. Juni 2006.

## 2. Jongens

Voor jongens worden volgende stadia gerapporteerd:

- **genitale ontwikkeling:** score G1 tot en met G5
- **pubisbehaaring:** score P1 tot en met P5



P1	Prepubertal, testicular length less than 2.5cm
P2	Early increase in testicular size, scrotum slightly pigmented, few long and dark pubic hair
P3	Testicular length 3.3-4 cm, lengthening of the penis, increase in pubic hair
P4	Testicular length 4.1-4.5cm, increase in length and thickening of the penis, adult amount of pubic hair
P5	Testicular length greater than 4.5cm, full spermatogenesis

Referentie: Marshall WA, Tanner JM. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. Arch Dis Child 45:13-23 (1970).

De chronologie van de stadia voor jongens en de leeftijdsrange worden gegeven in Tabel 2.

Tabel 2: Chronologische volgorde en beschrijving van de stadia van Tanner in de puberteitsontwikkeling van jongens, leeftijd waarop ieder stadium bereikt wordt volgens Tanner en vergelijking met Vlaamse groeistudie 2004. M: borstontwikkeling; P: pubisbeharig.

Stadium	Beschrijving	Leeftijd (gem.± 2SD)	Vlaamse groeistudie
G1, P1	Prepubertaire toestand (testisvolume < 4 ml)		
G2	Eerste testisvergroting; scrotale huid: dunner en gerimpeld, pigmentatie van het scrotum; nog geen of slechts geringe vergroting van de penis	11.64 ± 2.14	11.42
G3	Vergroting van de penis vnl. in de lengte en verdere groei van testiculair volume; meer pigmentatie en uitzakken van het scrotum	12.85 ± 2.07	12.91
P2	Enkele lange licht gepigmenteerde haren aan de basis van de penis	13.44 ± 2.18	11.95
G4	Verdere vergroting van de penis, nu ook in de breedte; ontwikkeling van de glans penis; verdere groei van de testes en het scrotum; meer pigmentatie van het scrotum	13.77 ± 2.04	13.86
P3	Densere en meer donkere, gekrulde pubisbeharig aan de basis van de penis en schaamdriehoek	13.90 ± 2.08	13.04
PHV	Peak height velocity ( $x = 10.3 \text{ cm/j}$ (7.0– 15.5cm/j))	14.06 ± 1.84	13.5
P4	Sterke toename van de pubisbeharig naar boven en lateraal; geen overschrijding van de liesplooien	14.36 ± 2.16	13.92
G5	Volwassen grootte van de genitalia	14.92 ± 2.20	15.33
P5	Volwassen type pubisbeharig; met overschrijden van de liesplooien	15.18 ± 2.14	15.20

Bron: Eindwerk Kristin Van de moortel. "Evaluatie van de praktische toepassing van de standaard groei en pubertaire ontwikkeling in de centra voor Leerlingenbegeleiding. Evaluatie van de richtlijn 'late of vertraagde puberteit'." Interuniversitaire GGS-opleiding Jeugdgezondheidszorg. Juni 2006.

## 8. Effectmerkers - endocriene merkers: fertiliteit

### MISKRAAM (moeders volwassenen en volwassen vrouwen)

Op basis van vragen uit vragenlijst (vraag R):

Voor alle opeenvolgende zwangerschappen:

Resultaat van de zwangerschap:

- spontane miskraam
- abortus om medische reden

**→ codering als ‘miskraam’ indien ‘spontane miskraam’ of ‘abortus om medische reden’ wordt gerapporteerd bij één van de opeenvolgende zwangerschappen**

### ZWANGERSCHAPSSTIMULATIE (moeders volwassenen en volwassen vrouwen)

#### 1. EEN VORM VAN ZWANGERSCHAPSSTIMULATIE

Op basis van vragen uit vragenlijst (vraag R):

Voor alle opeenvolgende zwangerschappen:

Ontstaan van de zwangerschap:

- na medische begeleiding

**→ codering als ‘zwangerschapsstimulatie’ indien ‘na medische begeleiding’ wordt gerapporteerd bij één van de opeenvolgende zwangerschappen**

#### 2. HORMONALE STIMULATIE

Op basis van vragen uit vragenlijst (vraag R):

Voor alle opeenvolgende zwangerschappen:

Ontstaan van de zwangerschap:

- na medische begeleiding
  - hormonale stimulatie (Clomid, Menopur,....)

**→ codering als ‘hormonale stimulatie’ indien ‘na medische begeleiding, subvraag hormonale stimulatie’ wordt gerapporteerd bij één van de opeenvolgende zwangerschappen**

#### 3. IVF / ICSI

Op basis van vragen uit vragenlijst (vraag R):

Voor alle opeenvolgende zwangerschappen:

Ontstaan van de zwangerschap:

- na medische begeleiding
  - IVF
  - ICSI

**→ codering als ‘IVF/ICSI’ indien ‘na medische begeleiding, subvraag IVF’ OF ‘na medische begeleiding, subvraag ICSI’ wordt gerapporteerd bij één van de opeenvolgende zwangerschappen**

### Bepaling van inhibine B (volwassen mannen)

Het principe van de test is een vaste fase sandwich ELISA (Enzyme-Linked-ImmunoSorbent Assay). De bepaling van inhibine B gebeurt met “INHIBIN-B DIMER ASSAY KIT” (ultra sensitive) geproduceerd door Serotec Limited Oxford. Voor men met de ELISA begint, ondergaan stalen en

standaards een voorbehandeling met detergent (Sodium Dodecyl Sulfate of SDS), een verwarming tot 100°C, en worden ze blootgesteld aan waterstofperoxyde.

De microtiterplaten zijn gecoat met een monocloonaal antilichaam tegen het  $\alpha$ -B onderdeel van inhibine. Deze worden geïncubeerd met standaard sera, blanco's en stalen van patiënten. Gedurende deze incubatie bindt het inhibine B met de geïmmobiliseerde antilichamen via zijn  $\alpha$ -B deel. Na de incubatie wordt het ongebonden materiaal weggewassen. Het gebonden inhibine B gaat in een tweede incubatiestap reageren met een detectie antilichaam. Dit detectie antilichaam is een monocloonaal antilichaam specifiek voor het  $\alpha$ -B onderdeel van inhibine dat gekoppeld is aan Alkaline Fosfatase. Het niet-gereageerd materiaal wordt weggewassen, waarna het Alkaline Fosfatase wordt gedetecteerd door gebruik te maken van een gevoelig versterkend substraat. Dit geeft als resultaat een rood reactieproduct met een kleurintensiteit die evenredig is met de concentratie van het dimere inhibine-B aanwezig in het staal. De absorbantiewaarden worden gelezen bij 490 nm met de plate-reader en berekent met behulp van een software pakket. De absorbantiewaarden van de standaarden worden in grafiek gezet met de overeenkomstige inhibineconcentraties (pg/mL) van de standaarden. Aan de hand van de grafiek worden de absorbanties van de stalen uitgezet en de inhibineconcentratie ervan bepaald.

Aantoonbaarheidsgrens (LOD) = 25 ng/mL.

De kwaliteitscontroles gebeuren intern.