



Kommentarer til EFSA's nye foreslåede risikovurdering af PFAS

Vinggaard, Anne Marie

Publication date:
2021

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Vinggaard, A. M., (2021). *Kommentarer til EFSA's nye foreslåede risikovurdering af PFAS*, No. 20/1005235, 10 p., Mar 25, 2020.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

NOTAT

Til Miljøstyrelsen

Vedr. EFSA's nye risikovurdering af PFAS

Fra DTU Fødevareinstituttet
DTUDOXs Journal nr. 20/1005235.

25. marts 2020

Kommentarer til EFSA's nye foreslåede risikovurdering af PFAS

DTU Fødevareinstituttet modtog den 9/3-2020 denne forespørgsel fra MST:

EFSA's PFAS opinion er i høring fra den 24.2.2020 til den 20.4.2020. EFSA foreslår en TWI på 8 ng/kg bw/week for summen af PFOA, PFNA, PFHxS og PFOS baseret på effekter på immunsystemet hos 1 årige børn (kolesteroleffekter indgår ikke længere som en key effekt).

Da en TWI fastsat af EFSA sandsynligvis vil have indflydelse på de danske jord- og drikkevandskvalitetskriterier ønsker Miljøstyrelsen rådgivning hos DTU Fødevareinstituttets, om specielt:

1. *DTU Fødevareinstituttet vurderer, at de 'key studies' EFSA har anvendt i deres draft opinion, er tilstrækkeligt robuste til at de kan anvendes til fastsættelse af TWI, herunder om det er rimeligt at antage, at de 4 stoffer har samme potens*
2. *DTU Fødevareinstituttet vurderer, at andre effekter end effekter på immunsystemet hos 1 årige børn burde anvendes til fastsættelse af TWI*
3. *DTU Fødevareinstituttet vurderer, om det er rimeligt at anvende den 'mixture approach', der anvendes i EFSA's draft opinion for de 4 stoffer*
4. *DTU Fødevareinstituttet vurderer, om EFSA's en TWI på 8 ng/kg bw/week kan anvendes til fastsættelse af danske jord- og drikkevandskvalitetskriterier på samme måde som i DTUs notat af den 7.2.2019 om forslag til sundhedsmæssigt baserede kvalitetskriterier for jord og drikkevand for PFOS og PFOA baseret på EFSA's midlertidige TWI'er for de 2 stoffer*

DTU Fødevareinstituttets konklusion

Ad 1) Robusthed af nøglestudier:

De fem studier der ligger til grund for fastsættelse af TWI'en vurderes at være i orden rent teknisk, men er behæftede med mange af de usikkerheder, der ofte er forbundet med epidemiologiske studier. Hver for sig står studierne ikke særlig stærkt, men tilsammen står de stærkt, da det samme forringede vaccinerespons er observeret af forskellige forskningsgrupper i forskellige befolkningssegmenter.

Stoffernes potens:

Alt i alt kender DTU Fødevareinstituttet ikke den relative potens af de fire PFAS i forhold til immuntoksicitet og der er derfor en betydelig usikkerhed forbundet med at antage, at de fire PFAS har samme potens. Det mest sandsynlige er at de fire PFAS har forskellig potens, men spørgsmålet er hvor meget de vil afvige fra hinanden og hvor rimeligt det er at antage lige stor potens?

Ad 2) Hvilket endpoint er bedst egnet til bestemmelse af kritisk effekt:

Set i lyset af at usikkerheden med hensyn til pålideligheden af kolesterol-endpointet er steget og at effekten på 'mammary gland development' alene ses i dyr samt den humane relevans er uklar, mener DTU at det forringede vaccinerespons er et egnet endpoint til fastsættelse af den kritiske effekt. Effekten ses i både dyr og mennesker og det må antages at et forringet vaccinerespons er et udtryk for en immunosuppressiv effekt af PFAS, som kan give sig udslag i en forhøjet risiko for infektions-relaterede sygdomme blandt de højst eksponerede.

Ad 3) Rimelighed af 'mixture approach':

Vi har ikke solid evidens for at alle fire PFAS hver for sig forårsager forringet vaccinerespons. Trods det mener DTU at det er rimeligt at antage at også når det gælder forringet vaccinerespons, vil de fire PFAS udvise kvalitativt samme effekt. DTU mener derfor det er rimeligt at anvende en 'mixture approach'.

Ad 4) Dette punkt bliver adresseret selvstændigt og uafhængigt af den øvrige kommentering af Elsa Nielsen, som var en del af CONTAM panelet der har udført vurderingen for EFSA.

Vedrørende Fødevareinstituttets habilitet i den konkrete sag

To af Fødevareinstituttets medarbejdere er medlemmer af EFSA's CONTAM panel og dermed medforfattere til EFSA's udkast til vurdering af perfluorerede forbindelser. De er af EFSA udpeget som panelmedlemmer udelukkende i kraft af deres faglige kompetencer, og de repræsenterer hverken instituttets eller Danmarks interesser i panelets arbejde. De har ikke drøftet EFSA's udkast til vurdering med andre i instituttet i forbindelse med udarbejdelsen.

Nedenstående kommentering af EFSA's udkast til vurdering af stofferne har ikke været drøftet med de pågældende medarbejdere.

Detaljeret svar:

EFSA har foretaget en risikovurdering af en række PFAS og har foreslået en gruppe TWI for PFOS, PFOA, PFNA og PFHxS på 8 ng/kg/uge baseret på forringet vaccine respons primært hos børn. Dette er en betydelig stramning af det tolerable indtag set i forhold til TDlen fastsat af EFSA i 2008 og er også en stramning i forhold til TWI'erne der blev foreslået for PFOS og PFOA separat i 2018 (se tabel sidst i dokumentet).

Ad 1)

Robusthed af studier

Der er publiceret seks studier vedrørende sammenhæng mellem PFAS eksponering og forringet immunrespons i børn og voksne. De tre studier - et dansk, norsk og tysk (Grandjean et al., 2012; Granum et al., 2013; Abraham et al., 2020) viser en relativ stærk omvendt association mellem PFAS eksponering og antistof-respons efter stivkrampe og difteri-vaccination i børn. Yderligere et amerikansk studie (Looker et al. 2014) og et mindre dansk studie viser en omvendt association i voksne (Kielsen, 2016). Det tyske studie (Abraham et al. 2020) er en indsendt artikel som desværre pt ikke er offentlig tilgængelig. Undertegnede har forsøgt at skaffe artiklen uden held og derfor kan kvaliteten af dette studie ikke vurderes.

Endelig er der et sjette studie fra USA (Stein et al. 2016) hvor der ikke kunne påvises en sammenhæng mellem PFAS eksponering og respons på influenzavaccination. Dette tilskrives et generelt manglende respons i det hele taget på influenzavaccinationen i denne gruppe mennesker.

En overordnet samlet vurdering af studierne er vanskeliggjort af de mange variable der indgår i studierne, hvoraf de vigtigste er:

- a) Hvilke PFAS der er analyseret for. Der er primært fokus på de 4 PFAS der er medtaget i denne risikovurdering (PFOS, PFOA, PFNA og PFHxS) men også længere-kædede PFAS indgår.
- b) Hvilke befolkningssegmenter der er undersøgt (børn versus voksne, og hvilken alder de undersøgte børn har)
- c) Hvilken vaccine der indgår i studiet (stivkrampe, difteri, influenza, røde hunde)

En betydelig usikkerhed i forbindelse med epidemiologiske studier er også 'mixed exposure' til mange kemikalier, som eksisterer i alle mennesker, og at der derfor ikke findes 'rene' kontroller. Specielt i de færøske studier kunne man forestille sig at PCB eksponering kunne interferere med udfaldet, men de statistiske analyser viser, at PCB ikke skulle være en afgørende 'confounder'. Dette understøttes af at immun-responset også ses i andre befolkningsgrupper med lavere PCB niveauer end den færøske.

En fordel ved de færøske studier er størrelsen og homogeniteten af studie-populationen og den høje deltagelsesrate plus at befolkningen efter al sandsynlighed ikke har været udsat for høj eksponering i arbejdsmiljø eller fra drikkevand, der kunne tænkes at forstyrre udfaldet.

DTUs vurdering er at de tilgrundliggende studier har en rimelig robusthed, men at det på basis af de foreliggende undersøgelser er vanskeligt at konkludere præcis hvilke PFAS der er afgørende for præcis hvilke vaccinationstyper i præcis hvilke aldersgrupper i befolkningen.

Men det overordnede billede der tegner sig er, at der for den kombinerede eksponering til de fire PFAS (PFOS, PFOA, PFNA og PFHxS) er en association med reduceret vaccinerespons. Og at effekten af PFAS eksponering er relativ stor (en ca. fordobling i eksponering giver en ca. halvering i antistof respons). Effekten i de epidemiologiske studier er understøttet af, at lignende effekter er observeret i dyreforsøg (i modsætning til kolesterol-effekten hvor modsatrettede effekter ses i dyr og mennesker). Det betyder at den kritiske effekt der observeres både i dyr og mennesker ved det laveste eksponeringsniveau, er immuntoksicitet. Dog er der kun dokumentation for PFOA og PFOS i dyreforsøgene. Men da effekterne er observeret for flere PFAS og i flere arter og er observeret i flere forskellige forskningsgrupper, anses effekten for at være robust.

Stoffernes potens

EFSA har valgt at fastsætte en gruppe TWI og har i beregningen antaget at de fire PFAS har samme potens.

Overordnet set vurderer DTU at det er klogt at fastsætte en gruppe TWI. Nye dyrestudier fra NTP hvor syv PFAS (fire alkylater og tre sulfonsyrer) er testet i sammenlignelige 28-dages forsøg viser generelt, at de samme kvalitative effekter på fx thyroidea-hormoner, kolesterol, lipider og galdesalte

ses for de syv PFAS (NTP, 2019a & b; EFSA Opinion (p. 153)). Da disse direkte sammenlignelige studier indikerer, at en gruppe af syv PFAS i høj grad påvirker de samme endpoints, giver det mening at antage at de fire PFAS vil udvise kombinationseffekter.

Spørgsmålet er om det er rimeligt at antage at de fire PFAS har samme potens?

RIVM har publiceret en rapport vedrørende relative potensfaktorer (RPF) som er baseret på eksterne doser i dyreforsøg og effekten på levervægt (RIVM, 2018). De fundne RPF indikerer, at de fire PFAS ikke har samme potens, nærmere bestemt 1, 2, 10 og 0.6 for henholdsvis PFOA, PFOS, PFNA og PFHxS. Men da RPF bør beregnes på basis af interne RPF er det tvivlsomt, hvor anvendelige resultaterne er. RIVM er pt i gang med at beregne RPF for PFAS baseret på intern eksponering i dyreforsøg med levertoksicitet som endpoint. Det er dog usikkert hvor anvendelige sådanne tal vil være til at rangere stoffernes potens for immuntoksicitet, da RPF her bliver bestemt for et andet endpoint i en anden art.

Derudover er der på basis af levervægte fra NTP dyrestudierne beregnet eksterne og interne RPF (EFSA Opinion p. 151) som viser store forskelle i rangering af potens alt efter om det er intern eller ekstern eksponering, der ligger til grund for beregningerne. Der mangler dog en detaljeret forklaring til den viste figur side 151. EFSA konkluderer at der er store usikkerheder forbundet med at udlede RPF for PFAS og at vi pt ikke har data til at vurdere RPF for immuntoksicitet. Det er også begrundet i, at virkningsmekanismen for immuntoksicitet ikke er klarlagt. Den har formentlig noget med NFκB aktivering at gøre og involverer formentlig ikke PPARα aktivering, som ellers ofte menes at være involveret i virkningsmekanismen af PFAS.

Hvis vi alligevel undersøger de fire PFAS' potens for PPARα aktivering in vitro, som er et af de endpoints vi har data for, ligger C_{20max} på 262, 16, 11 og 81 μM for henholdsvis PFOS, PFOA, PFNA og PFHxS (EFSA Opinion, p.137). Ser vi på stigning i levervægt fra NTP in vivo studierne var PFOS, PFOA og PFNA de mest potente, mens PFHxS var mindre potent (EFSA Opinion p.136). Dvs. at der er betydelige potensforskelle mellem stofferne, men problemet er *at stofferne rangerer forskelligt alt efter hvilket endpoint vi fokuserer på, og vi har ingen ide om potensforskelle når det omhandler immuntoksicitet.*

De fire PFAS har sammenlignelige $T_{1/2}$, og derfor er forskelle i kinetik ikke et argument imod at stofferne har sammenlignelig potens. Ved PBPK modelleringen er antaget at PFHxS opfører sig som PFOS og at PFNA opfører sig som PFOA. DTU vurderer at der er en betydelig usikkerhed forbundet med denne antagelse.

Alt i alt kender vi ikke den relative potens af de fire PFAS og DTU vurderer derfor at der er en betydelig usikkerhed forbundet med at antage at de fire PFAS har samme potens. Det mest sandsynlige er at de fire PFAS har forskellig potens, men spørgsmålet er hvor meget de vil afvige fra hinanden og hvor rimeligt det er at antage lige stor potens?

Ad 2)

EFSA har foretaget en risikovurdering af en række PFAS og har foreslået en gruppe TWI for PFOS, PFOA, PFNA og PFHxS på 8 ng/kg/uge baseret på forringet vaccine respons primært hos børn. Dette er en betydelig stramning af det tolerable indtag set i forhold til TDlen fra EFSA i 2008 og er også en stramning i forhold til TWIerne der blev foreslået for PFOS og PFOA separat i 2018. Dengang i 2018 blev TWIerne foreslået at blive baserede på forhøjede kolesterol-niveauer i mennesker. De epidemiologiske studier, der foreligger for kolesterol effekter blev af EFSA og DTU i 2018 vurderet at være robuste til sammen. Det gør de stadigvæk, men EFSA vurderer nu i 2020 at usikkerheden med hensyn til den vurderede årsagssammenhæng mellem øget PFAS eksponering og øget serum kolesterol i mennesker er steget. Dette er primært begrundet i en postuleret proces vedrørende enterohepatisk cirkulation af både PFAS og galdesyre, hvoraf den sidstnævnte kan påvirke kolesterol-niveauer. Det er ikke forklaret i EFSA's scientific opinion, hvordan denne bias præcis kan opstå og hvorfor usikkerheden omkring dette er steget. Undertegnede har i en kommentar fra BfR til den tidligere risikovurdering fundet følgende forklaring:

Det er velkendt at der eksisterer inter-individuelle forskelle i enterohepatisk cirkulation (EHC) som gør at galdesalte og PFAS genoptages i forskellig grad fra tarm til lever. Ved fx høj EHC vil både galdesalte og PFAS genoptages i høj grad. Galdesaltene, der dannes ud fra kolesterol, vil via negativ feedback på deres egen syntese forårsage et forøget kolesterol-niveau. Samtidig forøges PFAS og dermed kan en positiv association opstå, som ikke er kausal.

Dette formodes at være årsagen til at EFSA nu vurderer at usikkerheden ved at bruge kolesterol som endpoint er blevet større. Det er uklart for os om usikkerheden ved at anvende kolesterol-data er steget, fordi der er fremkommet yderligere dokumentation for det (som ikke er beskrevet i rapporten) eller om det alene handler om at panelet er blevet oplyst om den formodede bias.

DTU er enig i at TWI'en ikke bør fastsættes på baggrund af effekter på 'mammary gland development', da effekten alene er rapporteret for PFOA i muse-forsøg og da vi ikke kender den humane relevans af effekten.

Panelet har i lyset af udgivelse af flere nye studier valgt at foreslå en gruppe TWI på basis af forringet immunrespons i mennesker. DTU er enige i at effekten på forringet vaccinationsrespons er kritisk og kan anvendes som den kritiske effekt. Det er vigtigt at bemærke at det forringede vaccinerespons er en sygdomsmarkør og ikke i sig selv er en 'adverse' effekt (som i øvrigt også gør sig gældende for kolesteroleffekten). Men det må antages at et forringet vaccinerespons er et udtryk for en immunosuppressiv effekt af PFAS, som kan give sig udslag i en forhøjet risiko for infektions-relaterede sygdomme blandt de højst eksponerede.

Ad 3)

EFSA har valgt at fastsætte en gruppe TWI for de fire PFAS, som mennesker er højst eksponerede til (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS).

Der findes rigtig mange eksperimentelle studier der rapporterer om både ligheder og forskelle i effekter af disse fire PFAS. Det kan dog ofte være vanskeligt at sammenligne studier på tværs, der er kørt under varierende eksperimentelle betingelser.

Nye dyrestudier fra NTP (EFSA opinion, p. 153) hvor syv PFAS (fire alkylater og tre sulfonsyrer) er testet i sammenlignelige 28-dages forsøg viser generelt, at de samme kvalitative effekter på fx thyroidea-hormoner, kolesterol, lipider og galdesalte ses for de syv PFAS. Da disse direkte sammenlignelige studier indikerer, at en gruppe af syv PFAS påvirker de samme endpoints, giver det mening at beregne en kombinationseffekt af de fire PFAS i det mindste for disse effekter.

Derudover har de fire PFAS en række ligheder når det omhandler kemiske karakteristika fx bioakkumulering og halveringstider.

Der er dog ikke kørt sammenlignelige eksperimentelle studier på immuntoksicitet af de fire PFAS og data fra eksperimentelle studier stammer primært fra PFOS og PFOA. Derfor ved vi ikke om alle fire PFAS har den samme effekt på vaccinerespons. Men da der opnås statistisk signifikans i de epidemiologiske studier for associationer mellem eksponering til de fire PFAS samlet og forringet immunrespons, vurderer CONTAM panelet at det er rimeligt at fastsætte en gruppe TWI for disse stoffer. Til trods for alle usikkerhederne forbundet med denne antagelse, vurderer DTU at det ud fra et pragmatisk synspunkt er rimeligt at antage at også for dette endpoint vil de fire PFAS udvise kvalitativt samme effekt.

Det skal dog tilføjes at gruppen af PFAS omfatter > 4000 forskellige stoffer heriblandt mange som ikke er perfluorede alkylater eller sulfonater. Da vi mangler data for de fleste af disse stoffer, kan det ikke vurderes om det vil være rimeligt at indregne dem i en 'mixture risk assessment'.

Udvikling af tolerable indtag for PFAS over tid

(med kritisk effekt i kursiv)

	PFOS	PFOA	PFOS, PFOA, PFNA & PFHxS
EFSA 2008	150 ng/kg/day (~ 1050 ng/kg/week) <i>Lipids/hormones in monkeys</i>	1500 ng/kg/day (~ 10500 ng/kg/week) <i>Liver toxicity in rats/mice</i>	
Danish EPA 2015 (drinking water, soil, ground water)	30 ng/kg/day (~ 210 ng/kg/week) <i>Liver toxicity in rats</i>	100 ng/kg/day (~ 700 ng/kg/week) <i>Liver toxicity in rats</i>	
EFSA 2018 (preliminary risk assessment)	13 ng/kg/week <i>Serum cholesterol increase in humans; Impaired vaccination response</i>	6 ng/kg/week <i>Serum cholesterol increase in humans (plus reduced birth weight & liver toxicity in humans)</i>	
EFSA draft 2020			Group TWI: 8 ng/kg/week <i>Impaired vaccination response</i>

Referencer

Abraham K, Mielke H, Fromme H, Volkel W, Menzel J, Peiser M, Zepp F, Willich SN and Weikert C, 2020. Internal exposure to perfluoroalkyl substances (PFASs) and biological marker in 101 healthy one year-old children: Associations between levels of perfluorooctanoic acid (PFOA) and vaccine response. *Archives of Toxicology*, SUBMITTED.

EFSA J. DRAFT: Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. Dieter Schrenk, Margherita Bignami, Laurent Bodin, James Kevin Chipman, Jesús del Mazo, Bettina Grasl-Kraupp, Christer Hogstrand, Laurentius (Ron) Hoogenboom, Jean-Charles Leblanc, Carlo Stefano Nebbia, Elsa Nielsen, Evangelia Ntzani, Annette Petersen, Salomon Sand, Christiane Vleminckx, Heather Wallace, Lars Barregård, Jean-Pierre Cravedi, Thorhallur Ingi Haldorsson, Line Småstuen Haug, Niklas Johansson, Helle Katrine Knutsen, Martin Rose, Alain-Claude Roudot, Henk Van Loveren, Günter Vollmer, Karen Mackay, Francesca Riolo and Tanja Schwerdtle

Grandjean P, Andersen EW, Budtz-Jorgensen E, Nielsen F, Molbak K, Weihe P and Heilmann C, 2012. Serum vaccine antibody concentrations in children exposed to perfluorinated compounds. *JAMA*, 307, 391-397. doi: 10.1001/jama.2011.

Granum B, Haug LS, Namork E, Stølevik SB, Thomsen C, Aaberge IS, van Loveren H, Løvik M and Nygaard UC, 2013. Pre-natal exposure to perfluoroalkyl substances may be associated with altered vaccine antibody levels and immune-related health outcomes in early childhood. *Journal of Immunotoxicology*, 10, 373-379.

Kielsen K, Shamim Z, Ryder LP, Nielsen F, Grandjean P, Budtz-Jorgensen E and Heilmann C, 2016. Antibody response to booster vaccination with tetanus and diphtheria in adults exposed to perfluorinated alkylates. *Journal of Immunotoxicology*, 13, 270-273. doi:10.3109/1547691x.2015.1067259

Looker C, Luster MI, Calafat AM, Johnson VJ, Burleson GR, Burleson FG and Fletcher T, 2014. Influenza vaccine response in adults exposed to perfluorooctanoate and perfluorooctanesulfonate. *Toxicological Sciences*, 138, 76-88. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kft269>

NTP (National Toxicology Program), 2019a. NTP technical report on the toxicity studies of perfluoroalkyl carboxylates (perfluorohexanoic acid, perfluorooctanoic acid, perfluorononanoic acid, and perfluorodecanoic acid) administered by gavage to sprague dawley (Hsd:Sprague Dawley SD) rats. NTP TOX 97. Research Triangle Park, North Carolina, USA. Available online: <http://ntp.niehs.nih.gov>

NTP (National Toxicology Program), 2019b. NTP technical report on the toxicity studies of perfluoroalkyl sulfonates (perfluorobutane sulfonic acid, perfluorohexane sulfonate potassium salt, and perfluorooctane sulfonic acid) administered by gavage to sprague dawley (Hsd:Sprague Dawley SD) rats. NTP TOX 96. Research Triangle Park, North Carolina, USA. Available online: <http://ntp.niehs.nih.gov>

RIVM Report 2018-0070 Zeilmaker MJ et al.: Mixture exposure to PFAS: A Relative Potency Factor approach.

Stein CR, Ge Y, Wolff MS, Ye X, Calafat AM, Kraus T and Moran TM, 2016b. Perfluoroalkyl substance serum concentrations and immune response to FluMist vaccination among healthy adults. *Environmental Research*, 149, 171-178. doi: 10.1016/j.