

Využitie analýz ortuti vo vlasoch na monitorovanie expozície v životnom a pracovnom prostredí.

Borošová, D.

*Regionálny úrad verejného zdravotníctva, Cesta k nemocnici 1
975 56 Banská Bystrica, Slovenská republika*





COPHES

Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale

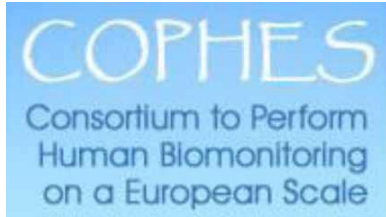
Politická relevancia:

Európsky akčný plán pre životné prostredie a zdravie na roky 2004 – 2010

akcia č. 3 - potreba rozvoja harmonizovaného prístupu k ľudskému biomonitoringu (HBM) v Európe

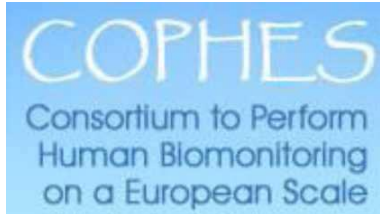
- **COPHES** projekt - operačný a vedecký projekt financovaný zo siedmeho rámcového programu Európskeho spoločenstva – DG Research (Grant Agreement Number 244237).
- www.eu-hbm.info
- Projekt **DEMOCOPHES** (LIFE09 ENV / BE / 000410) - financovaný spoločne Európskou komisiou programu LIFE + (50%), a zvyšných 50% je poskytovaná prostredníctvom zúčastnených krajín
<http://www.eu-hbm.info/democophes/project-partners>
- Coordinator - FPS Health, Food Chain Safety and Environment, Brusel, Belgium





DEMOCOPHES sa zameriava na testovanie

"Hypotéza, že HBM možno vykonávať koherentným a harmonizovaným spôsobom v celej Európe, a to prostredníctvom všeobecne vyspelých protokolov, stratégií a vedeckých nástrojov, ktoré zabezpečia spoľahlivé a porovnateľné údaje, a zároveň vedie k efektívnejšiemu využívaniu zdrojov".

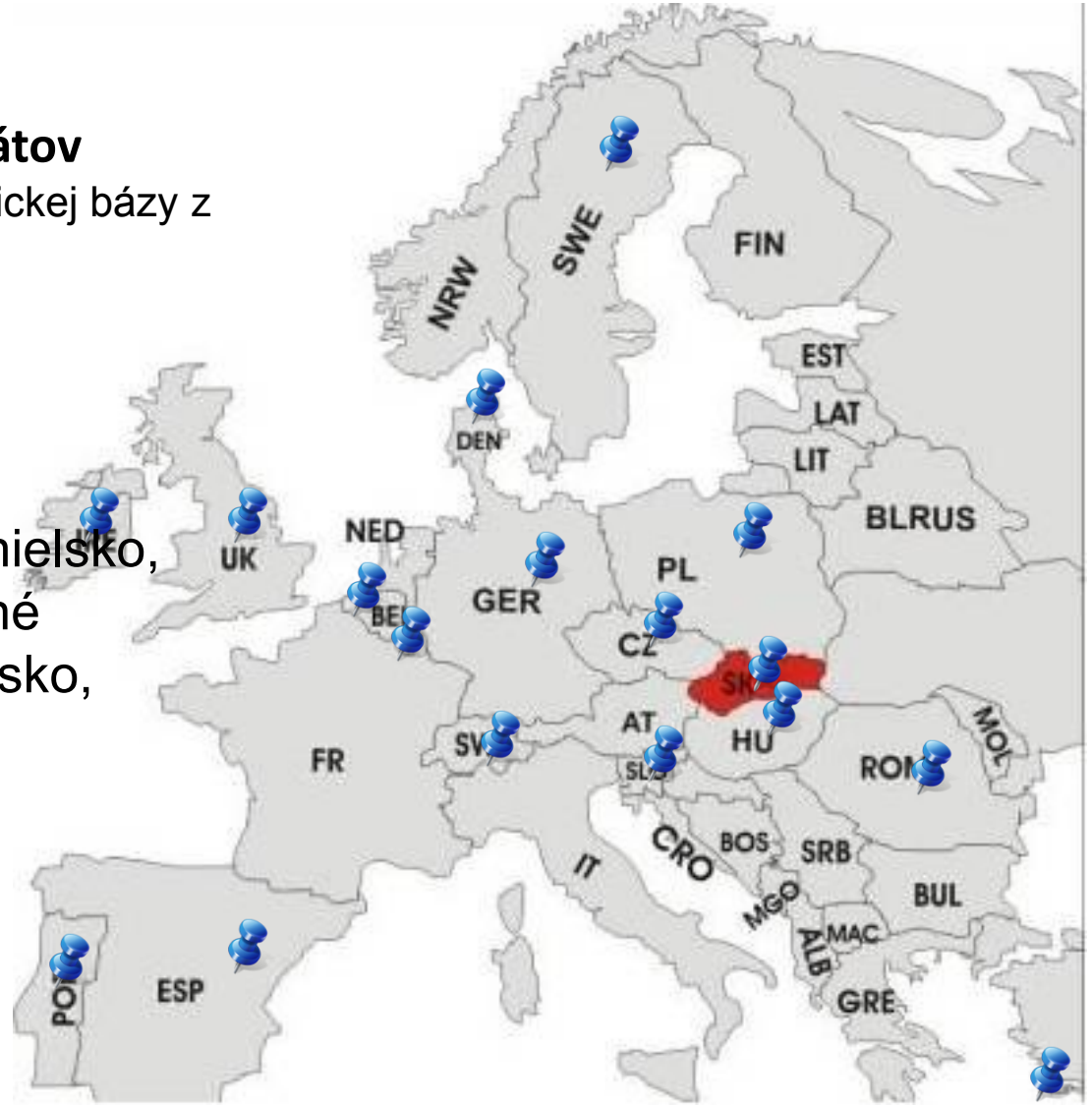


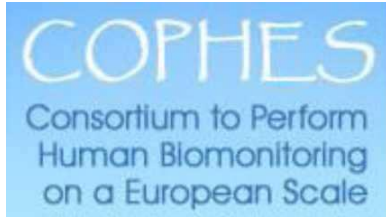
DEMOCOPHES

17 partnerov – európskych štátov

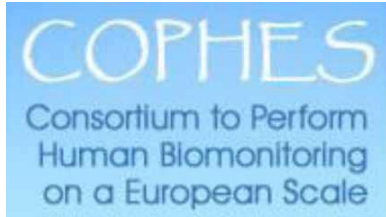
cieľom je praktické overenie teoretickej bázy z COPHES-u, t. j. štúdia uskutočniteľnosti (2010 – 2012)

Belgicko, Cyprus,
Nemecko, Dánsko, Poľsko,
Rumunsko, Slovinsko, Španielsko,
Maďarsko, Švédsko, Spojené
kráľovstvo, Portugalsko, Česko,
Slovensko, Maďarsko,
Luxembursko a Írsko





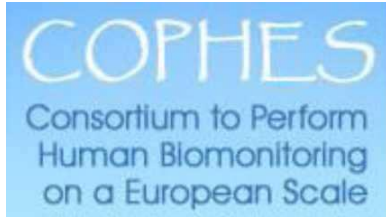
- **V každej krajine boli vybraté dvojice matka-dieťa.**
- **Deti vo veku 6-11 rokov a ich matky do 45 rokov.**
- **Každá krajina v počte $n=120$ dvojíc.**
- **4 biomarkery: ortuť vo vlasoch, kadmium, kotinín a metabolity ftalátov v moči**
- **Celkovo 3688 dobrovoľníkov: pričom polovica pochádzala z mestského a polovica z vidieckeho prostredia.**
- **Aby bola zabezpečená ochrana práv a dôstojnosti každého dobrovoľníka, všetky výskumné činnosti, sledoval právny a etický rámec stanovený v niekoľkých medzinárodných smerniciach**



• **Ortuť**



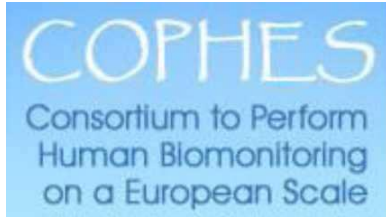
- **Ortuť je kov striebrobielej farby, ktorý má pri izbovej teplote kvapalnú formu.**
- **Vyskytuje sa v troch formách ktoré majú rôzne vlastnosti, použitie a toxicitu**
- **elementárna (alebo kovová) ortuť**
- **anorganické zlúčeniny ortuti**
- **organické (hlavne metylortuť, MeHg)**



• **Ortuť - výskyt**

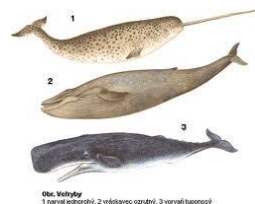
- **Ortuť se do prostredia uvoľňuje z mnohých prírodných zdrojov, napr. pri lesných požiaroch, záplavách alebo v dôsledku poveternostných vplyvov.**
- **V dôsledku ľudskej činnosti vstupuje ortuť do prostredia pri spaľovaní odpadov a fosilných palív a pri niektorých priemyselných procesoch.**
- **Nesprávna likvidácia výrobkov s obsahom ortuti môže viesť k uvoľneniu ortuti do prostredia.**
- **Vo vodnom prostredí sa ortuť koncentruje v potravinových reťazcoch od planktónu po dravé ryby; v závislosti od znečistenia vodného sedimentu môžu byť obsiahnuté v morských rybách a v morských plodoch**





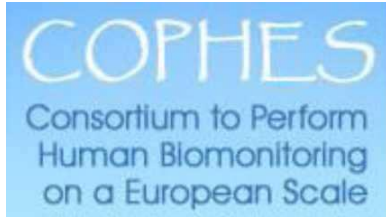
• Ortuť – zdroje expozície

- Ako zdroje ortuti sú známe amalgámové výplne zubov ich počet, zloženie a kvalita týchto výplní, trvanie a intenzita žuvania a samotné stravovanie.
- Výrazne vyšší príjem ortuti je spojený s častou konzumáciou rýb, kôrovcov a ich produktov s vysokým obsahom ortuti.



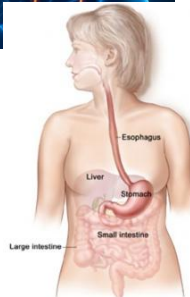
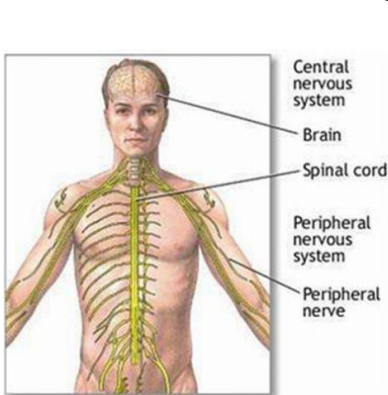
Obc. Veľký
1. veľký žralok, 2. veľký mečozub, 3. veľký kôrovec

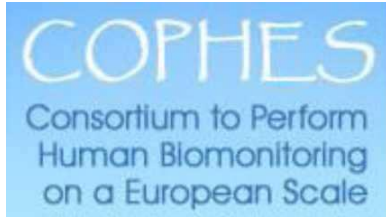




• Ortuť - chronická expozícia

- Chronická expozícia ortuti je spojená s poškodením centrálnej nervovej sústavy, obličiek a žalúdka a ovplyvňuje tiež imunitný systém, krvný tlak a frekvenciu srdca.
- Keďže ortuť môže vo forme metylortuti prechádzať placentou, môže byť ortuti vystavený aj vyvíjajúci sa plod, čo vo vysokých koncentráciách ortuti môže spôsobiť (neuro)vývojové poruchy.





- **Na zisťovanie obsahu ortuti v ľudskom tele sa najčastejšie používajú analýzy ortuti vo vzorkách krvi, moču a vlasov.**

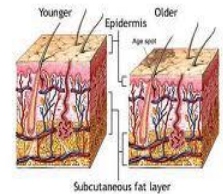
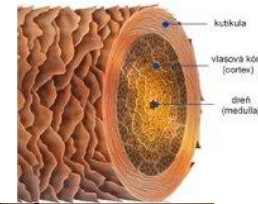


- **Analýza vlasov je vhodná metóda na zistenie histórie vystavenia sa ortuti, využívajúc poznatok o rýchlosti rastu vlasov približne 1 cm za mesiac.**



Vlasy

- Vlasy sú pre biomonitoring vhodným materiálom z dôvodov povahy neinvazívneho vyšetrenia
- nenáročné vzorkovanie
- jednoduchý transport a uskladnenie
- vysoká koncentrácia analytu v matrici
- stabilita ortuti vo vlasoch
- možnosti sledovania expozície v čase
- dostupnosť referenčných materiálov
- nízka cena v porovnaní s ostatnými materiálmi



Terénna práca

mestská oblasť – Bratislava

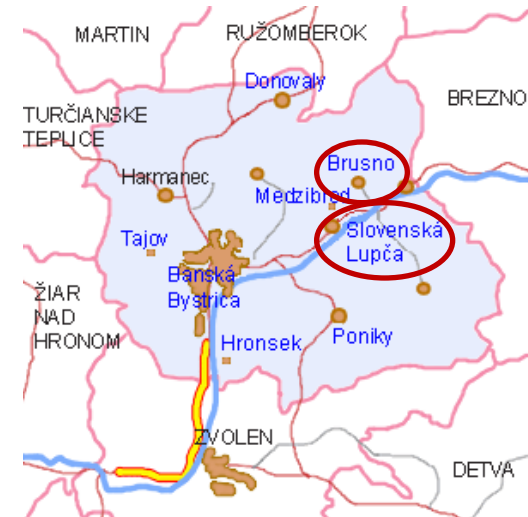
63 párov

(Lamač, Karlová Ves, Ružinov,
Petržalka)

vidiecka oblasť - okolie Banskej

Bystrice 66 párov

(Slovenská Ľupča a Brusno)



- **dotazníkové šetrenie**

- zmapovanie obytného prostredia a bydliska
- výživy
- fajčenia
- spôsobu života ovplyvňujúceho expozíciu
- zamestnanie
- sociálna demografia

- **dotazníkovo vyšetrované údaje pred odberom vlasov**

- farbe vlasov
- štruktúre
- chemickom ošetrení
- umývaní
- použitom šampóne

Harmonizovaný protokol

Terénna práca - vzorkovanie

- Vzorky sa respondentom odoberali v strede záhlavovej časti v stočenom prameni tesne pri hlave, spevnili sa lepiacou páskou vo vzdialenosti 5-6cm s vyznačením smeru ku koreňu prameňa vlasov.



Harmonizovaný protokol

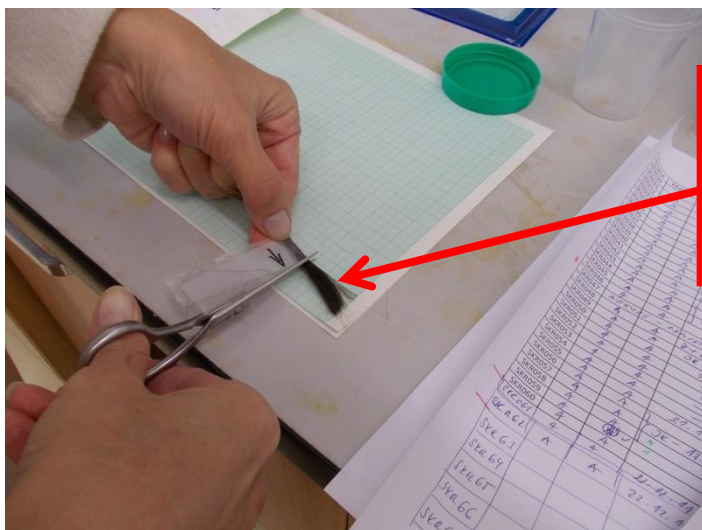
Vzorkovanie - pre-analytická fáza



Papierové
vrecúško



Smer šípky ku skalpu



Segment
3 cm od
skalpu



nožnice

Harmonizovaný protokol

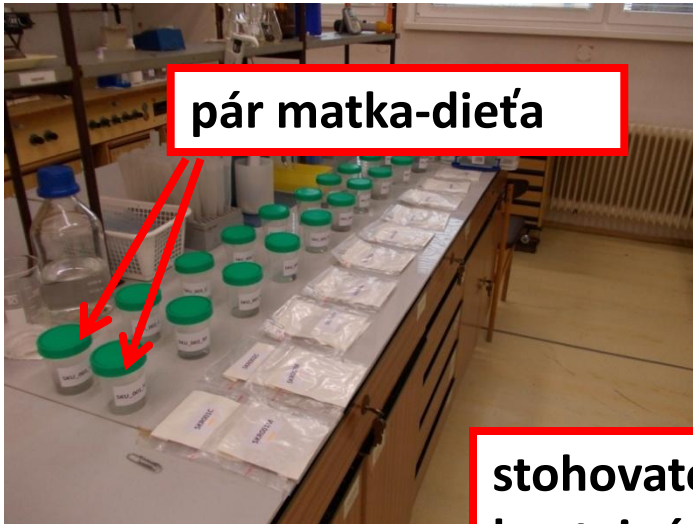
Vzorkovanie - pre-analytická fáza

polypropylénové
nádoby



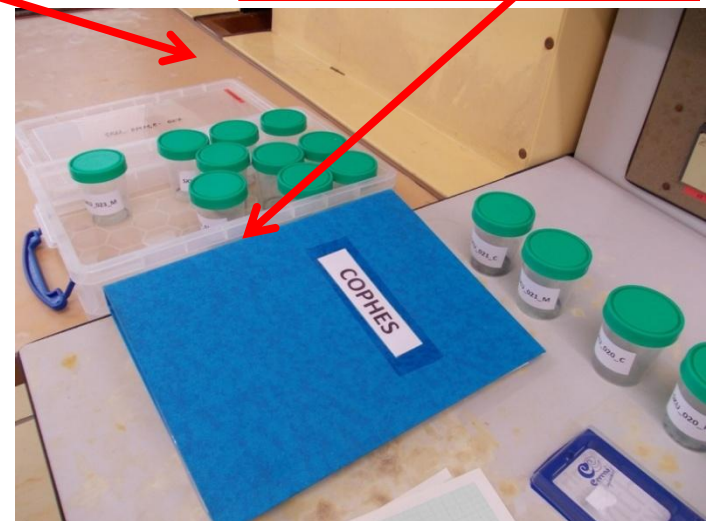
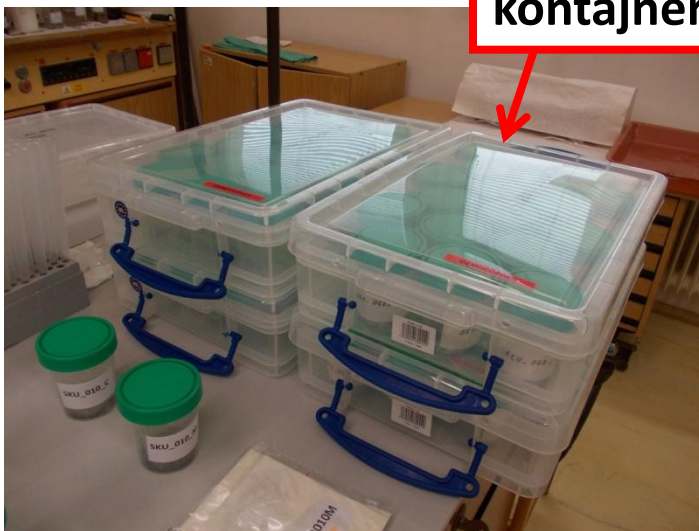
Harmonizovaný protokol

Vzorkovanie - pre-analytická fáza



A photograph of a data recording sheet with handwritten entries. A red box with the text "záznamy" (records) is overlaid on the right side of the sheet, with a red arrow pointing to the handwritten data.

SKR001	A	A		
SKR002	A	A		
SKR003	A	A		
SKR004	A	A	22.10.11	
SKR005	A	A		
SKR006	A	A		
SKR007	A	A	26.11.11	
SKR008	A	A		
SKR009	A	A		
SKR010	A	A	26.11.11	
SKR011	A	A		
SKR012	A	A		
SKR013	A	A		
SKR014	A	A		
SKR015	A	A		
SKR016	A	A		
SKR017	A	A		
SKR018	A	A		
SKR019	A	A		
SKR020	A	A		
SKR021	A	A		
SKR022	A	A		
SKR023	A	A		
SKR024	A	A		
SKR025	A	A		
SKR026	A	A		
SKR027	A	A		
SKR028	A	A		
SKR029	A	A		
SKR030	A	A		



Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- Rôzne techniky
- Atómová absorpčná spektrometria - AAS (UNEP/WHO, 2008).

Lab	Method	LOQ ($\mu\text{g/g}$)
2	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.012
4	MW-FIMS	0.015
8	ICP/MS	0.015
9	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.01
11	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	
12	CV-AAS	0.01
13	CV-AAS	0.10
14	CV-Amalgamation-AAS	0.015
15	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.016
16	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.01
19	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.01
21	ICP/MS	0.000014
23	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.0025
24	CV-AAS	0.0016
25	CV-AAS	0.012
26	FIMS	0.080
34	Thermal Decomposition-Amalgamation- AAS	0.01498
36	ICP/MS	

1. Konzultačný deň NRC, 3.11.2015, ICP/MS

Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- Museli sa zväžiť odchýlky laboratórií a detekčné limity .
- Testované laboratóriá mohli získať potvrdenie svojich meracích schopností.
- viac ako rok efektívneho budovania kapacít spolu s prísny m zabezpečením a kontrolou kvality procesu, bolo možné získať porovnateľné meranie biomarkerov
- Dosiahnuté prostredníctvom medzilaboratórneho porovnávacieho vyšetrovania (the Interlaboratory Comparison Investigations) a externého hodnotenie systému kvality (EQUAS-External Quality Assessment Scheme (EQUAS)).



Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- Organizátor štúdie usporiadal 4 medzilaboratórne porovnávacie skúšky.
- Pre každé kolo porovnávacej skúšky boli pripravené dve vzorky vlasov na dvoch rôznych koncentračných úrovniach.
- Cieľom medzilaboratórnych vyšetrení porovnanie bolo meranie porovnateľnosti (stupeň kolísanie analytických výsledkov) zúčastnených laboratórií.
- Konsenzná hodnota, počítaná ako priemer výsledkov účastníkov po vylúčení odľahlých hodnôt, bola použitá ako referenčná hodnota.

Harmonizovaný protokol

analytická fáza

ICI 01/2011

Results COPHES ICI 01/2011

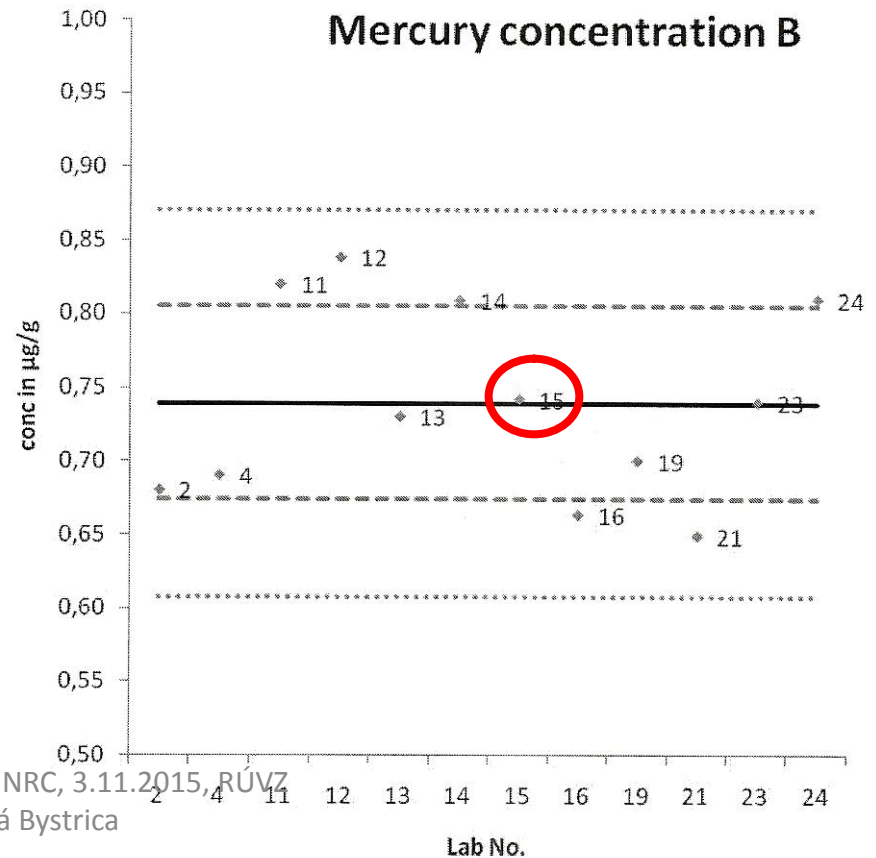
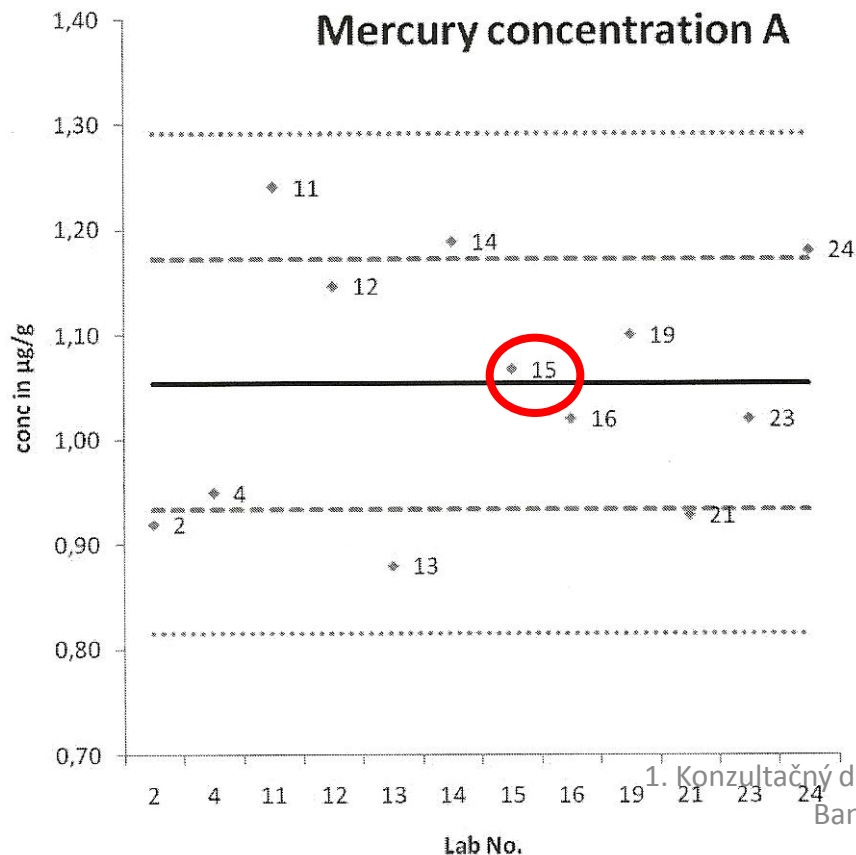
Your Lab No.: 15

Parameter Mercury in hair (values in $\mu\text{g/g}$)

Results COPHES ICI 01/2011

Your Lab No.: 15

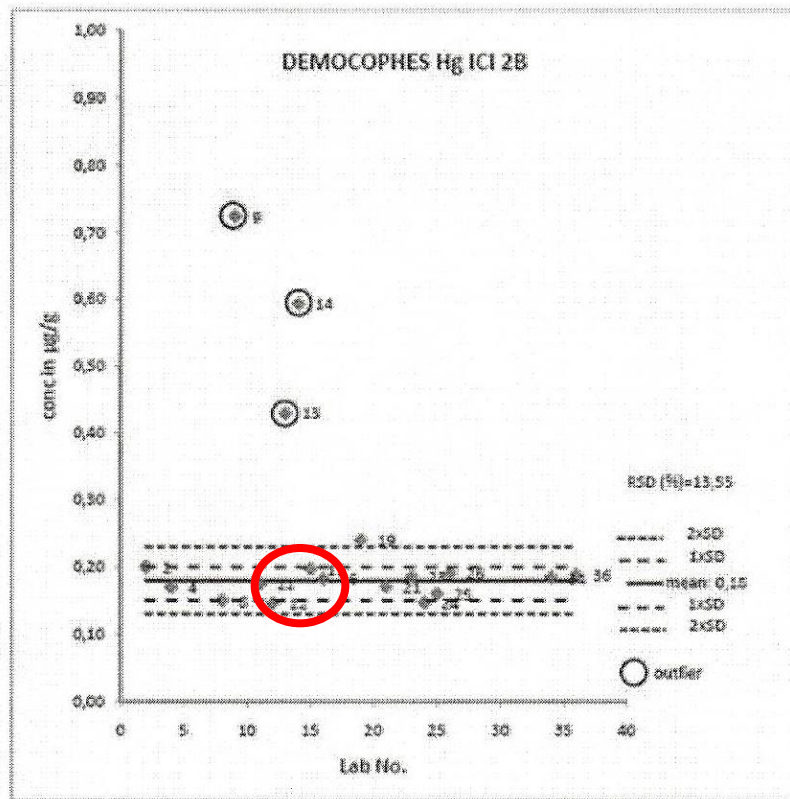
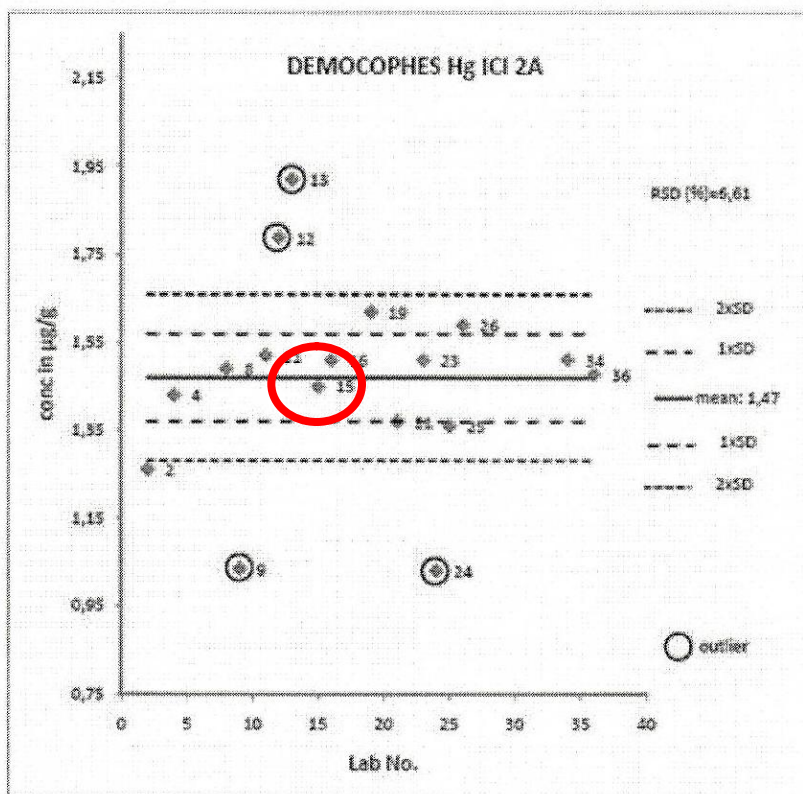
Parameter Mercury in hair (values in $\mu\text{g/g}$)



Harmonizovaný protokol

analytická fáza

ICI 02/2011



Harmonizovaný protokol

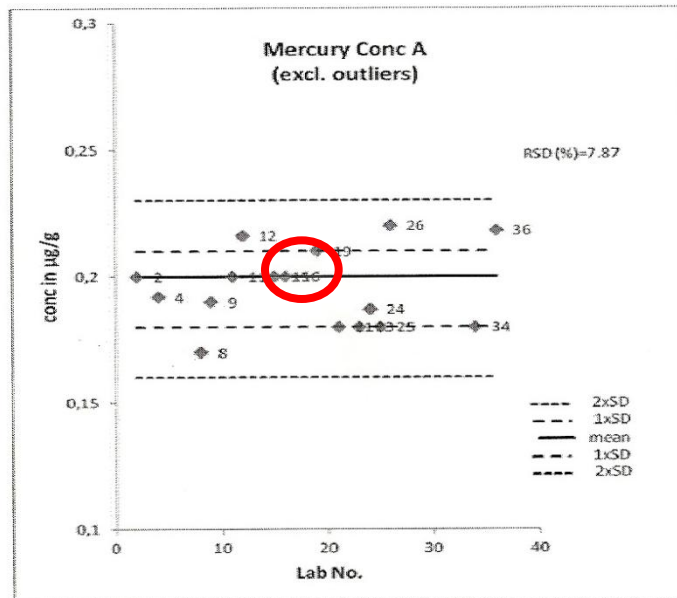
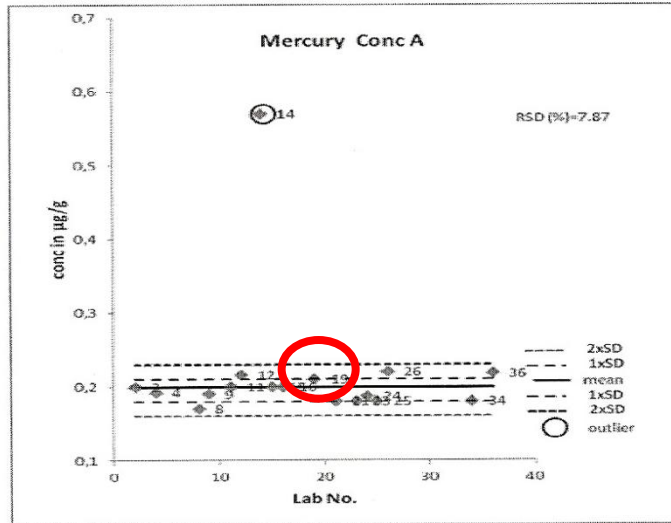
Results COPHES EQUAS 01

analytická fáza

EQUAS 01

Your Lab No.: 15

Parameter Mercury in hair (values in $\mu\text{g/g}$)



- V rámci EQUAS kontrolné vzorky boli analyzované vo vybratých referenčných laboratóriách.
1. Alaska State Public Health Laboratory Anchorage, USA
 2. First Nations and Inuit Health Branch Laboratory (FNIHB) Ontario, Canada
 3. National Institute for Minamata Disease (NIMD) Kumamoto, Japan
 4. RTI International Triangle, USA
 5. School of Medicine and Dentistry – University of Rochester Rochester, USA
 6. Centre de Toxicologie du Québec (CTQ) of the Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) Quebec, Canada

Harmonizovaný protokol

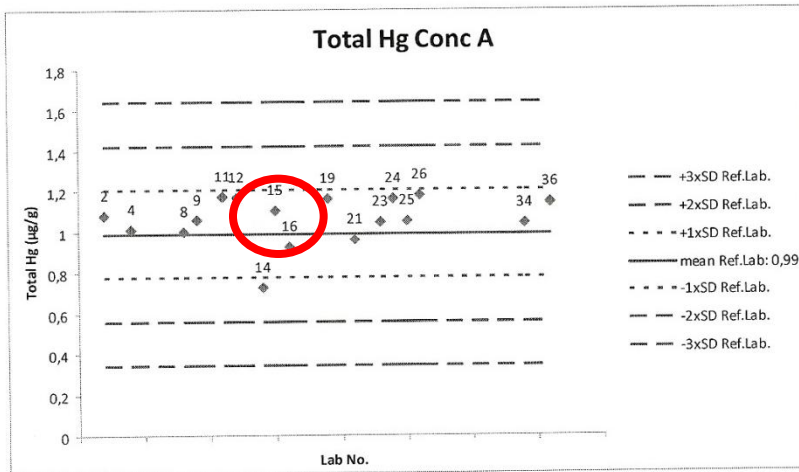
analytická fáza

EQUAS 02

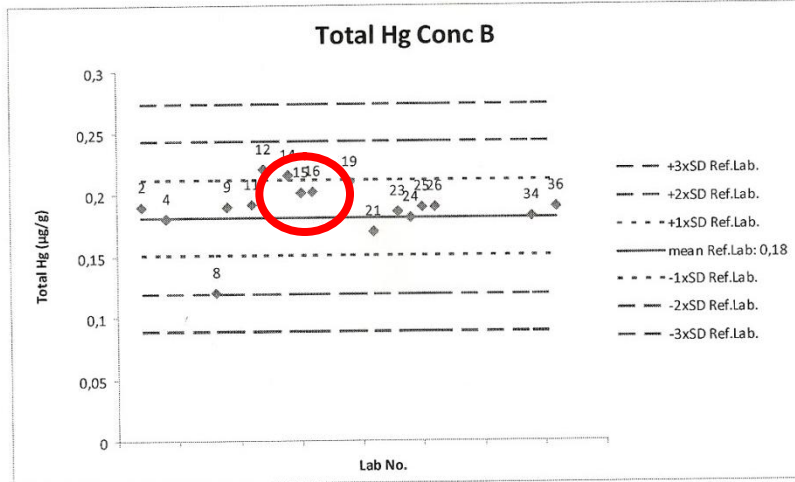
RESULTS COPHES EQUAS 02

Your Lab No.: 15

Parameter Mercury in hair (values in $\mu\text{g/g}$)



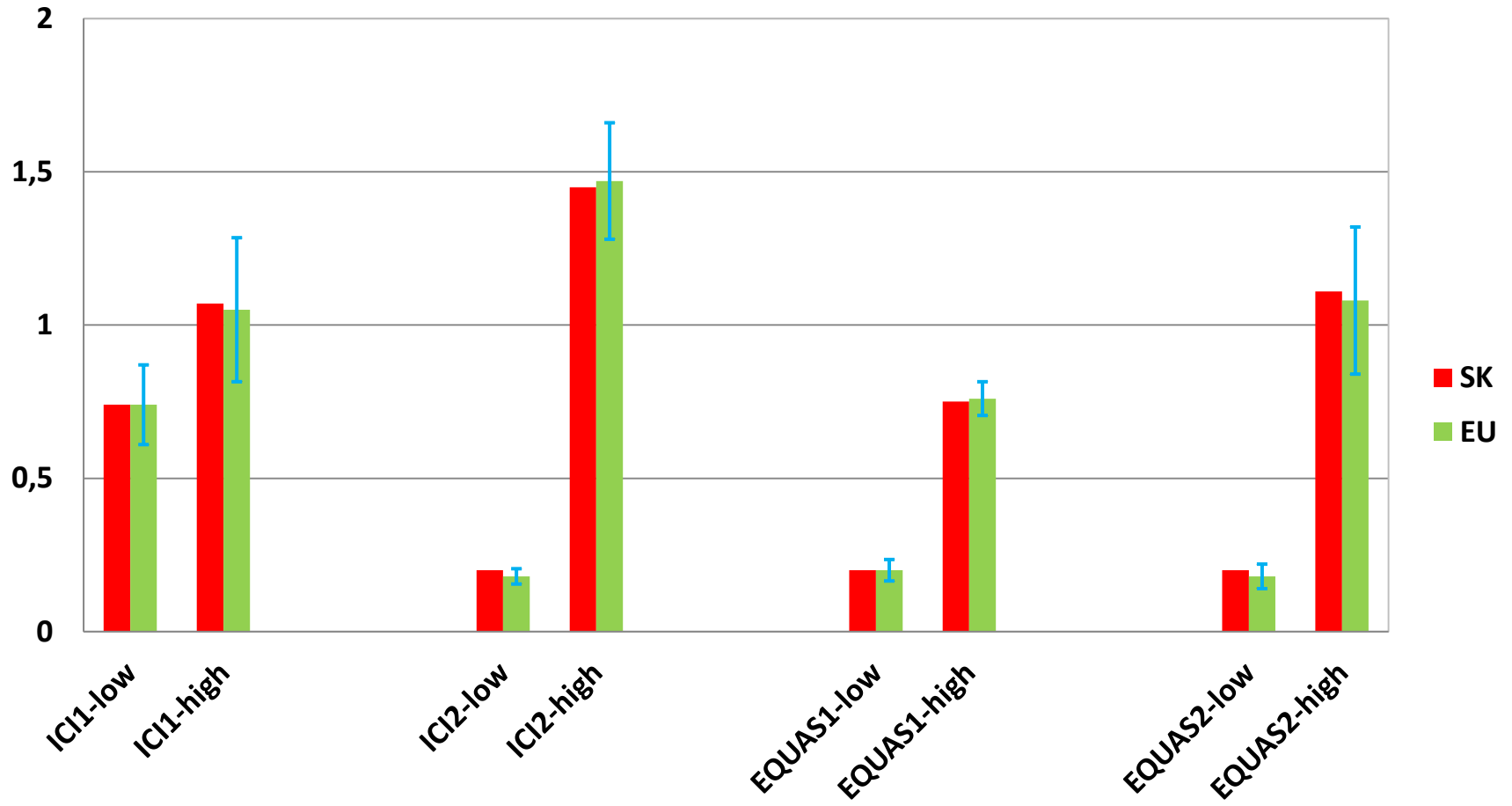
- Výsledky slúžili na určenie referenčnej hodnoty a hraničných hodnôt biomarkera pre každú testovanú vzorku.
- Cieľom bolo určiť presnosť a správnosť označenej tzv. „true“ hodnoty.



Medzilaboratórne porovnávacie skúšky

ICI- Interlaboratory comparison investigations

EQUAS- External quality assessment schemes



Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- **V tabuľke sú uvedené čiastkové výsledky laboratória RÚVZ BB v porovnaní s výsledkami dosiahnutými v rámci európskej štúdie po vylúčení odľahlých hodnôt.**

Interlaboratory comparison investigations (ICI)

External quality assessment schemes (EQUAS)

		SLOVAK - BB	EU			Range 2SD	
		($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)	<i>n</i>	%RSD	($\mu\text{g/g}$)	
ICI 1	C _{low}	0,74	0,74	(12)	8,9	0,61-0,87	
	C _{high}	1,07	1,05	(12)	11,3	0,82-1,29	
ICI 2	C _{low}	0,20	0,18	(15)	13,6	0,18-0,23	
	C _{high}	1,45	1,47	(13)	6,6	1,28-1,66	
EQUAS 1	C _{low}	0,20	0,20	(16)	7,5	0,16-0,23	
	C _{high}	0,75	0,76	(16)	4,0	0,65-0,76	
EQUAS 2	C _{low}	0,20	0,18	(16)	11,5	0,15-0,23	
	C _{high}	1,11	1,08	(16)	9,3	0,82-1,30	

Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- Iba laboratóriám, ktoré úspešne prešli procesom zabezpečovania kvality, v súlade s kritériami stanovenými v COPHES / DEMOCOPHES, bolo umožnené analyzovať DEMOCOPHES vzorky.
- Keďže výsledky nášho laboratória boli vo všetkých štyroch porovnávacích skúškach presné a správne, boli sme oprávnení vykonať analýzy všetkých 129 dvojíc, matka-dieťa spolu, tzn. 258 analýz podľa kapacitných možnosti zariadenia AMA 254

Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- Na analýzu ortuti vo vlasoch sme používali metódu atómovej absorpčnej spektrometrie na prístroji AMA 254
- Využitím techniky generovania pár kovovej ortuti s následným zachytením a obohatením na zlatom amalgamátore sa dosahuje mimoriadne vysoká citlivosť stanovenia definovaná limitom detekcie $0,005 \mu\text{g/g}$ a kvantifikácie $0,016 \mu\text{g/g}$ ako aj nezávislosť výsledku stanovenia na matrici vzorky.



ALTEC s.r.o. analytická laboratorní technika, PRAGUE

LOD – $0,005 \mu\text{g/g}$

LOQ – $0,016 \mu\text{g/g}$



Harmonizovaný protokol

analytická fáza

- **Validovaná metóda akreditovaná
SNAS podľa normy
ISO/IEC 17025 : 2005**
- **LOD - 0,005 $\mu\text{g Hg/g hair}$**
- **LOQ - 0,016 $\mu\text{g Hg/g hair}$**

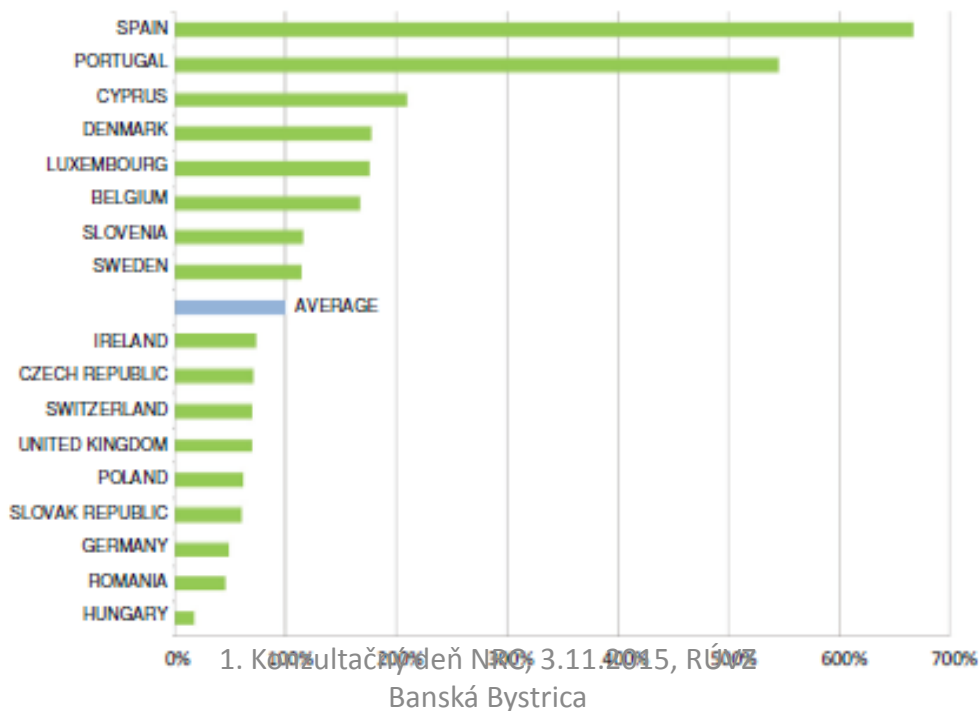
Harmonizovaný protokol

analytická fáza

Počet vzoriek	258
Počet vzoriek v sérii	15-18 (max. 20)
QA/QC :	dva body kalibrácie
	dve analýzy internej vzorky QC (CRM)
	duplikátna analýza každej vzorky
	analýza vzorky v páre matka-dieťa v ten istý deň

Výsledky EU

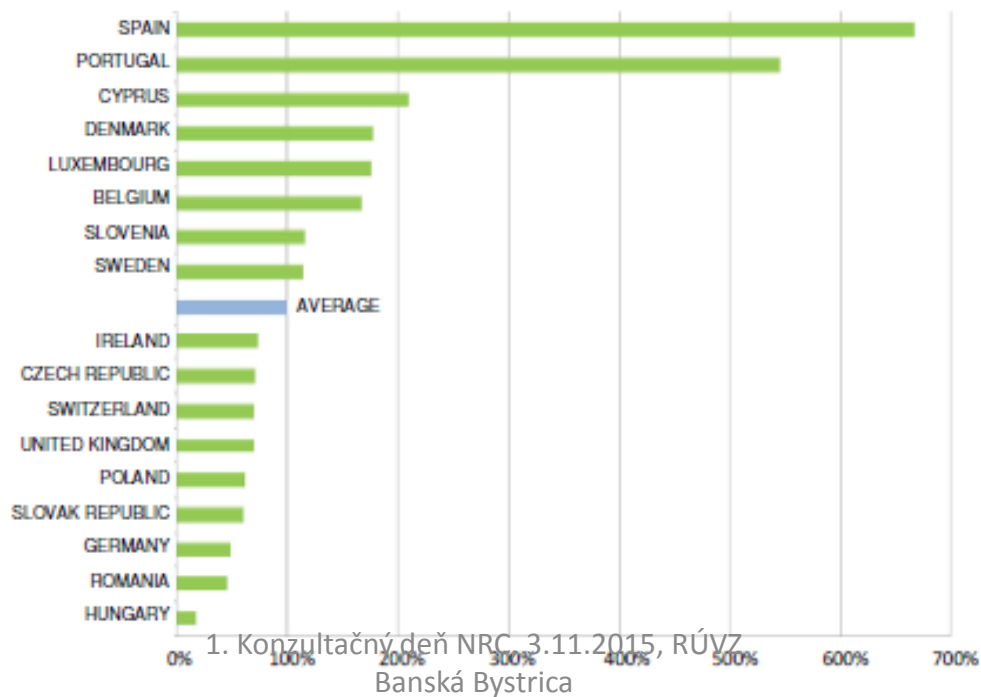
- Ortuť sa kumuluje v tele počas života a je vyššia u matiek v porovnaní s deťmi
- Hlavným zdrojom expozície u matiek aj u detí je konzumácia morských rýb. V porovnaní európskych krajín, sú rozdiely v koncentrácii ortuti vo vlasoch medzi európskymi štátmi významné, a súvisia s výrazne rozdielnou spotrebou rýb, ktorá je najvyššia v Portugalsku a Španielsku a najnižšia v Maďarsku.



Výsledky EU



- **Cyprus, Dánsko, Luxembursko a Belgicko majú hodnoty vyššie ako je európsky priemer. Ostatné krajiny, zapojené v projekte, hlavne zo strednej a východnej Európy sa nachádzajú na úrovni európskeho priemeru, a pod priemerom.**
- **Konzumácia morských rýb je v krajinách južnej Európy veľmi významná, avšak, na rozdiel od Portugalska a Španielska sa v spomínaných krajinách nekonzumujú veľké dravé ryby, ktoré môžu byť zdrojom metvlortuti.**





Výsledky EU

- Neznamená to však, aby sa z dôvodu výsledkov zistených v projekte DEMOCOPHES obmedzila konzumácia rýb, nakoľko sú veľmi významným zdrojom omega-3 nenasýtených mastných kyselín, vitamínu D, jódu, ktoré sú veľmi dôležité pri prevencii kardiovaskulárnych ochorení, preto bolo navrhnuté optimálne riešenie konzumácie rýb približne

2 porcie týždenne

- 1,4 % detí a 3,4 % ich matiek z celého európskeho súboru má hodnoty nad súčasne platnou zdravotne významnou hodnotou

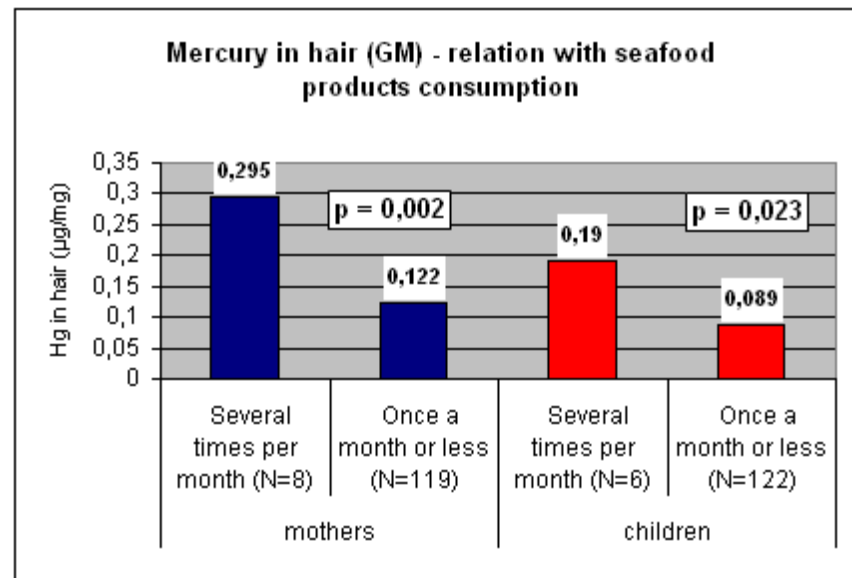
2,3 µg/g

určenou spoločnou Komisiou Svetovej zdravotníckej komisie pre bezpečnosť potravín a prídavné látky v potravinách (FAO/WHO - (JECFA)).



Výsledky SK

- V zhode s európskymi výsledkami výsledky SR potvrdili už známe fakty o ortuti, že vekom dochádza ku postupnej kumulácii ortuti vo vlasoch – matky mali vyššie hodnoty, ako ich deti. Hlavným zdrojom ortuti je konzumácia morských rýb.
- Konzumácia rýb sladkovodných neovplyvňuje obsahy ortuti vo vlasoch.

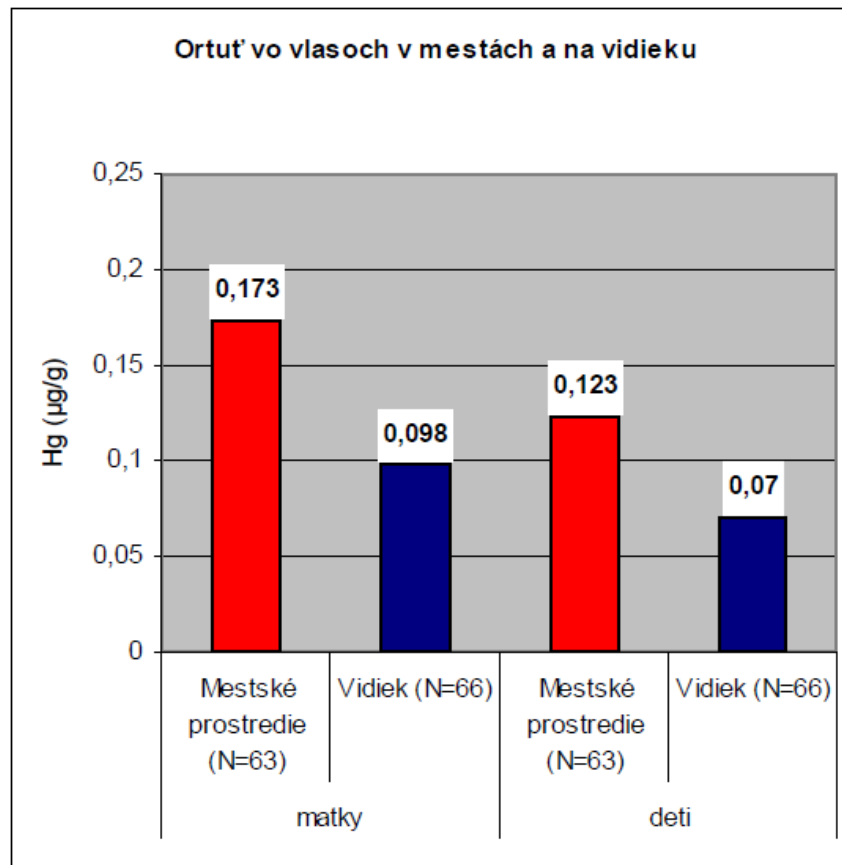




Výsledky SK

Zvýšené hladiny ortuti vo vlasoch boli zistené

- u mestskej populácie v porovnaní k vidieckemu obyvateľstvu
- a aj u respondentov s vyšším vzdelaním, čo sa vysvetľuje ich vyššou uvedomelosťou k zdravej výžive a teda aj častejšou konzumáciou rýb.





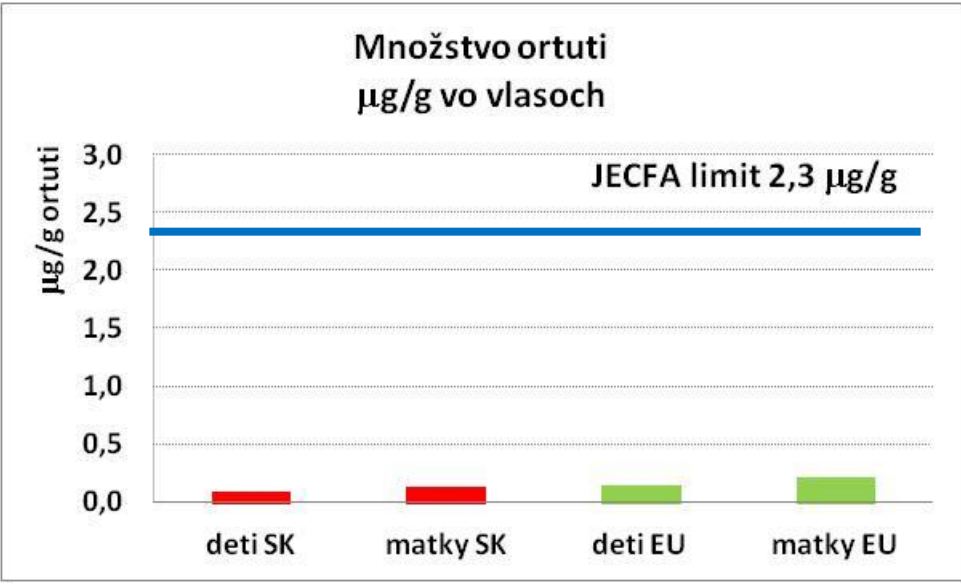
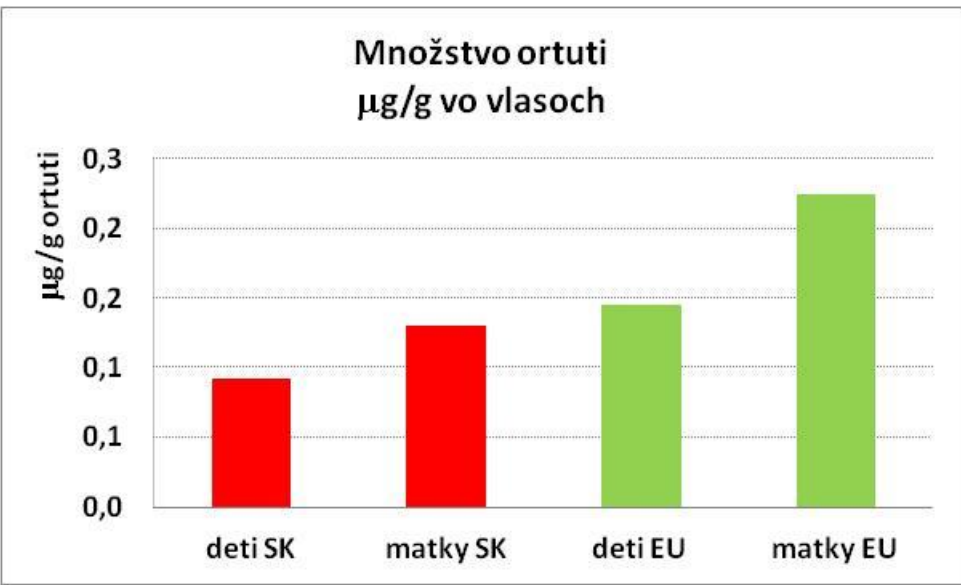
Výsledky SK a EU



Ortuť vo vlasoch	jednotka	priemer (95% interval spoľahlivosti)		JECFA (FAO/WHO)
		expozícia SK	expozícia EU	
deti	mg/g	0,092 (0,080 – 0,106)	0,145 (0,139 – 0,151)	2,3
matky		0,130 (0,113 – 0,148)	0,225 (0,216 – 0,234)	

SR patrí ku krajinám s nízkou spotrebou rýb, čoho dôkazom sú aj zistené hodnoty expozície, ktoré sú významne nižšie v porovnaní s európskou populáciou, a až o rád nižšie ako je zdravotne významný limit.







Výsledky SK

- Ostatné zdroje ortuti, amalgámové plomby, rozbité teploměry, úsporné žiarivky nepreukázali významný vplyv na obsah Hg vo vlasoch.





Záver DEMOCOPHES

- Trvanie projektu SK: 2011-2012
- Všetci účastníci matky a ich deti obdržali list s výsledkami
- Výsledky a závery COPHES a DEMOCOPHES štúdie boli prezentované na konferencii na 'Human Biomonitoring: Linking Environment to Health and Supporting Policy', Cyprus, v Larnaca, 23.-24.10. 2012.
- Národné sympóziu o správe o agregovaných výsledkov pre širokú verejnosť, a ich politiky. 27. 11. 2012, ÚVZ SR Bratislava
- Štúdia, v ktorej sa v európskom meradle vyšetřilo celkom 3688 účastníkov ukázala, že
- **harmonizovaný, porovnateľný postup na európskej úrovni je uskutočniteľný, reálny.**

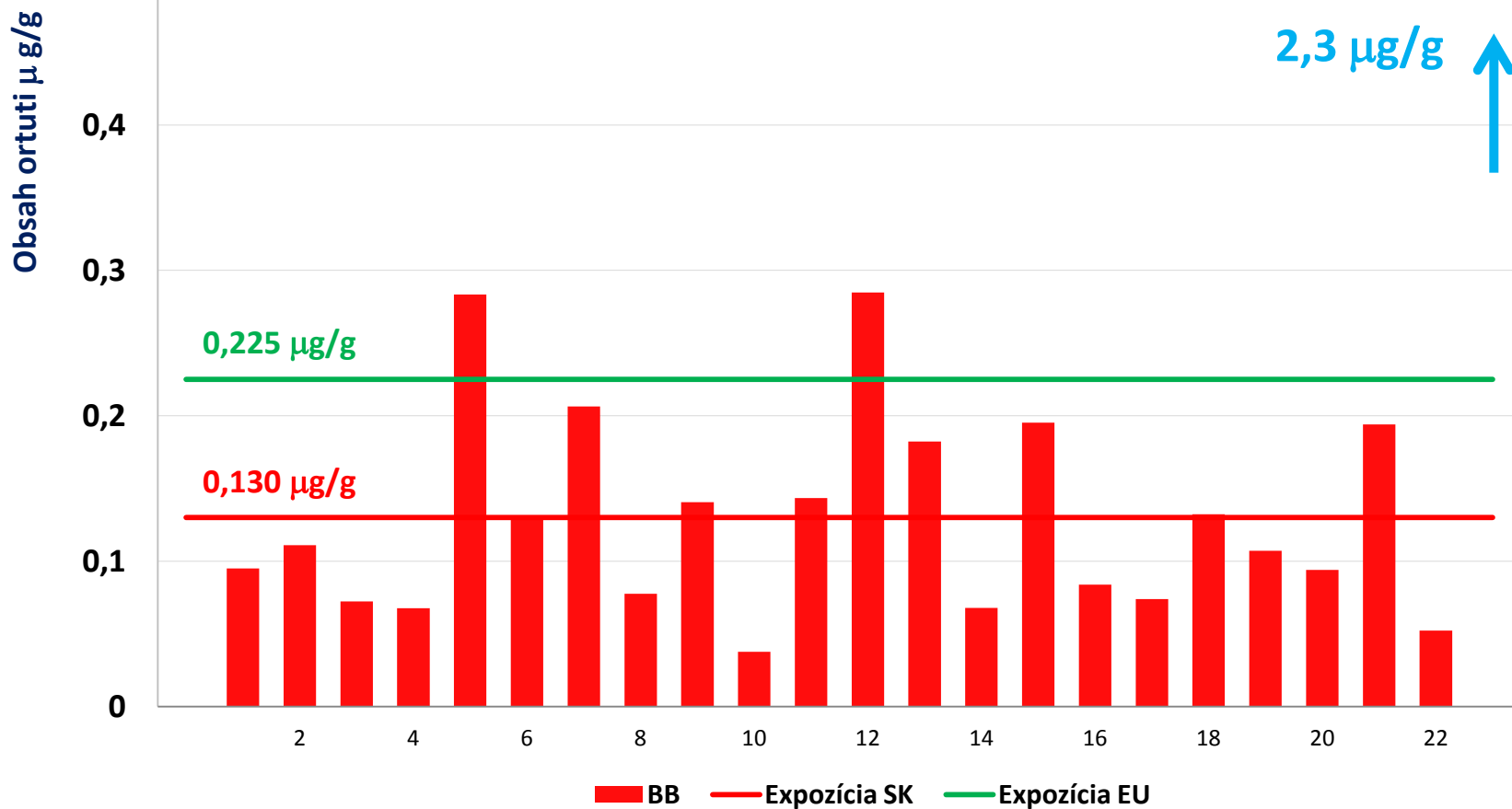


NRC pre laboratórnú diagnostiku v ľudskom biomonitoringu

Regionálny úrad verejného
zdravotníctva
Banská Bystrica

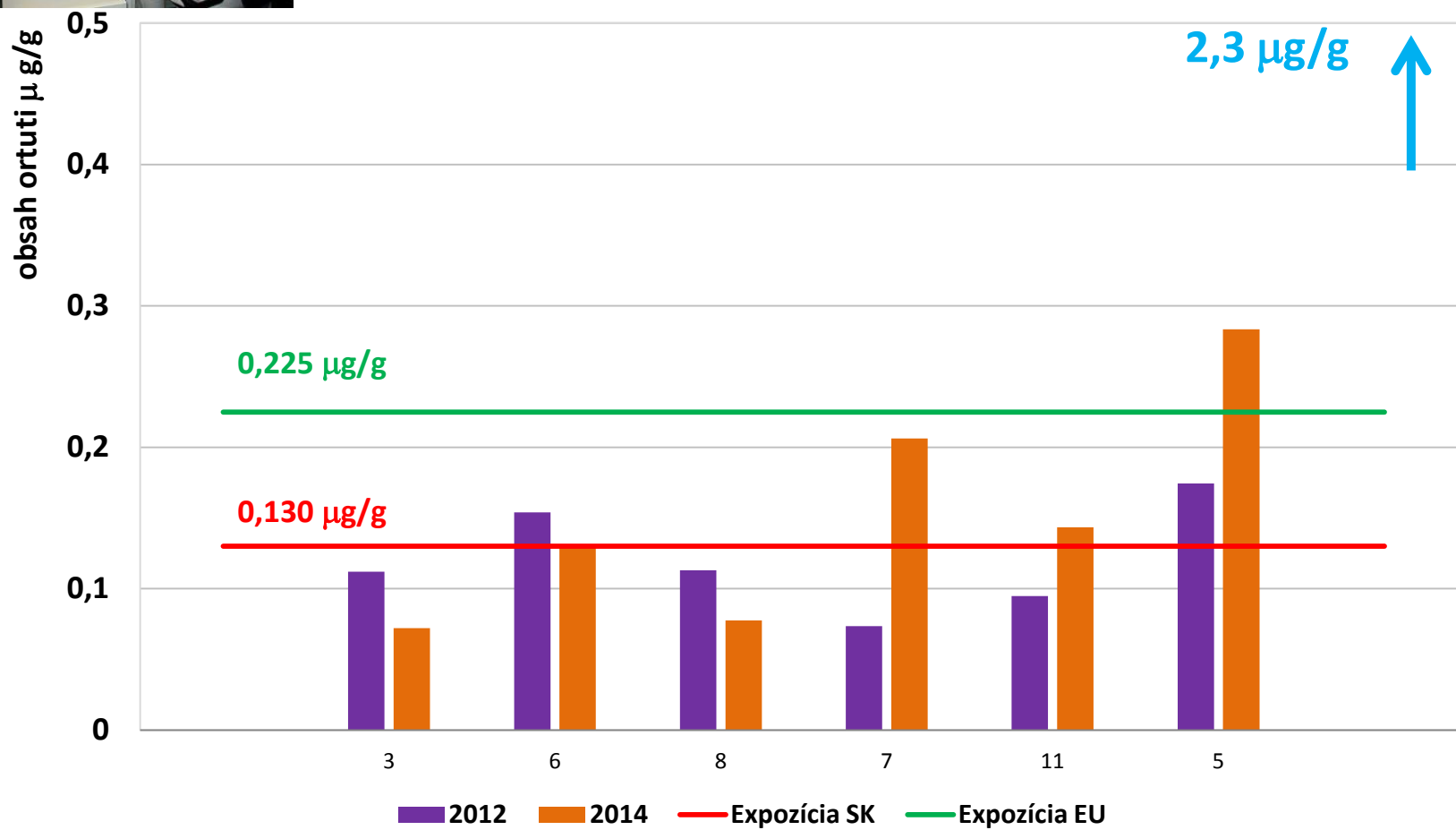
Pracovníci z prostredia chemického laboratória

$n=22$, $(0,038-0,285)$ $\mu\text{g/g}$, medián $0,109$ $\mu\text{g/g}$

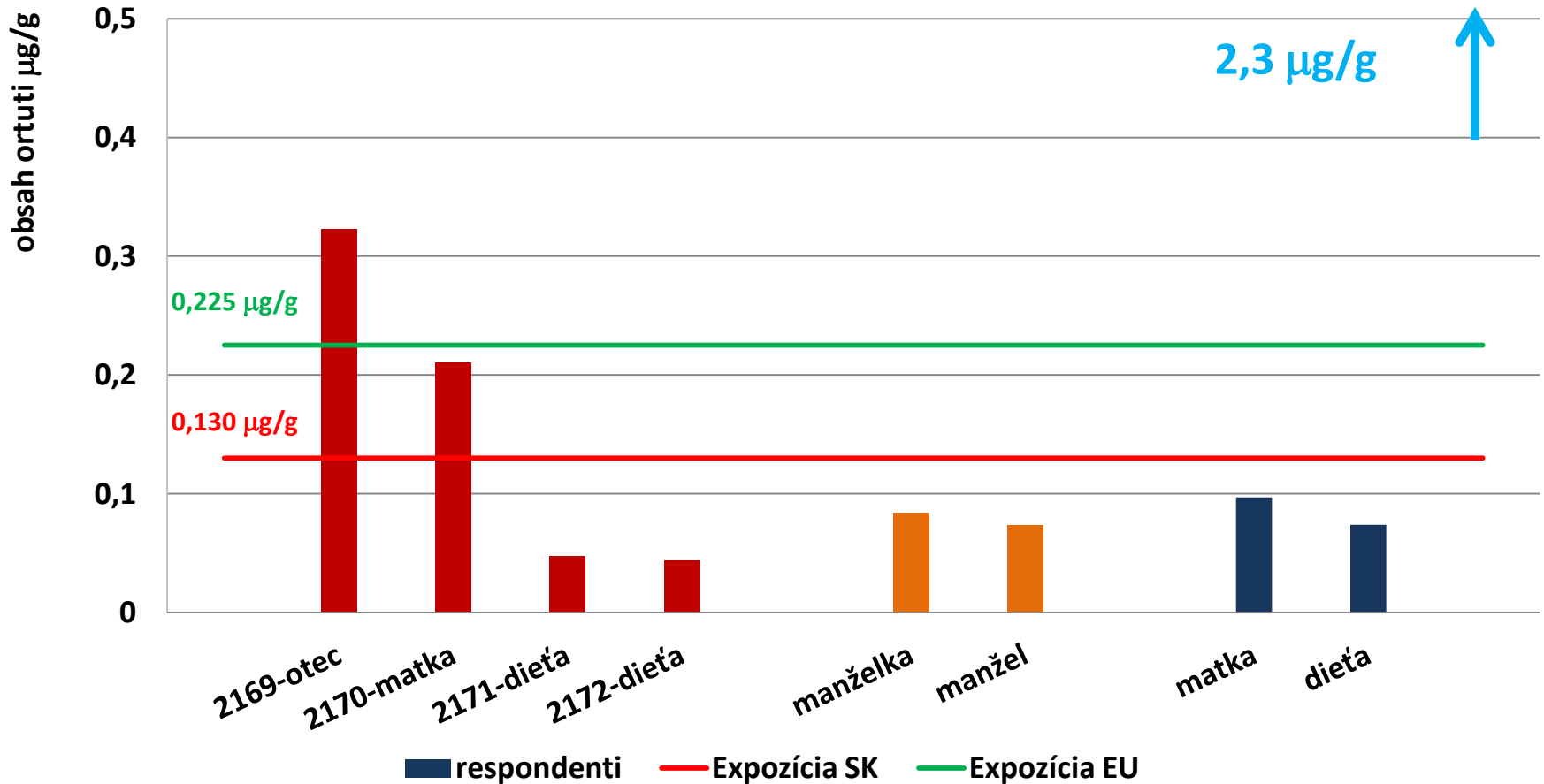




Pracovníci z prostredia chemického laboratória $n=6$, po dvoch rokoch



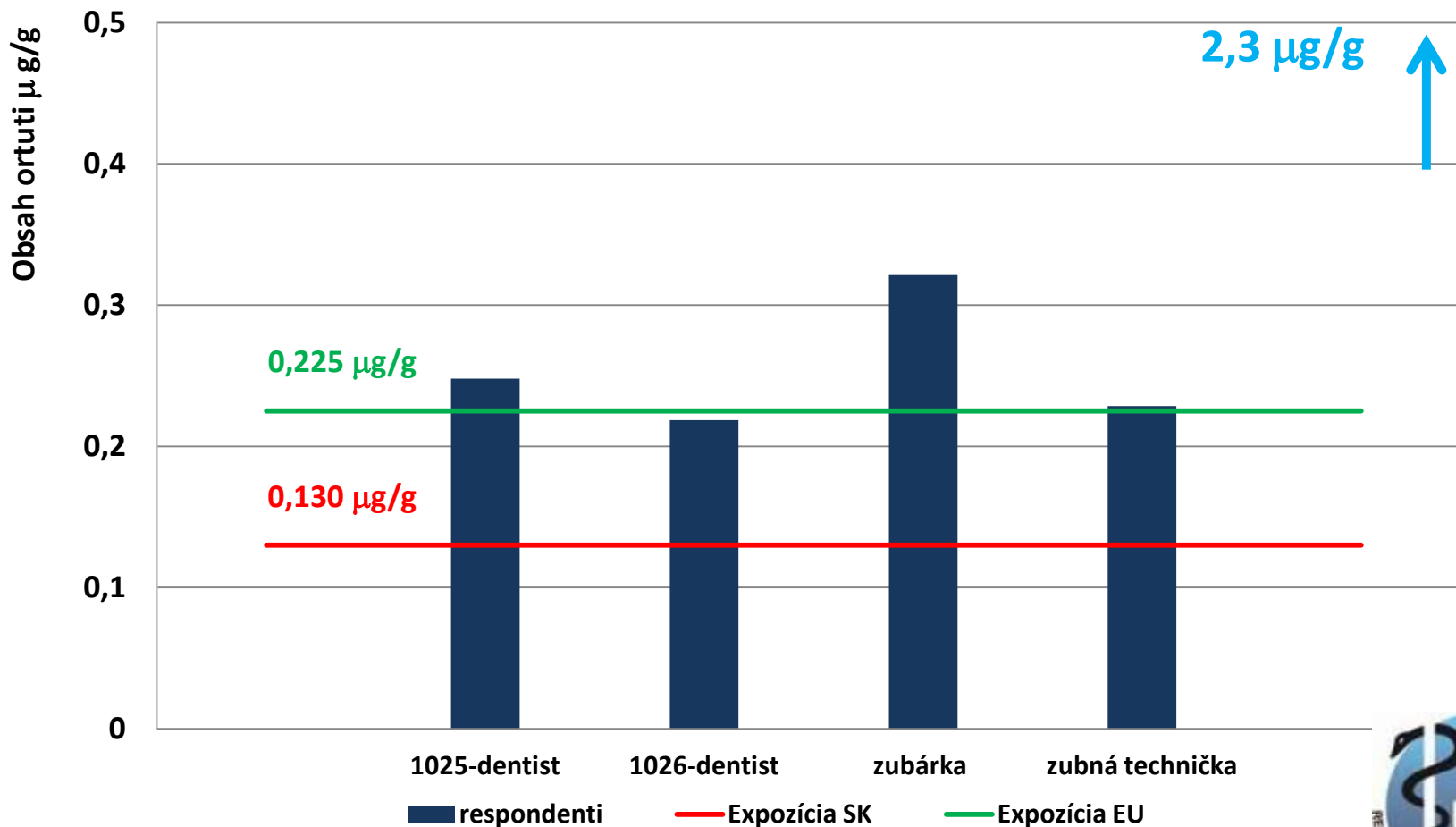
Expozícia ortuti s anamnézou rozbitého teplomera



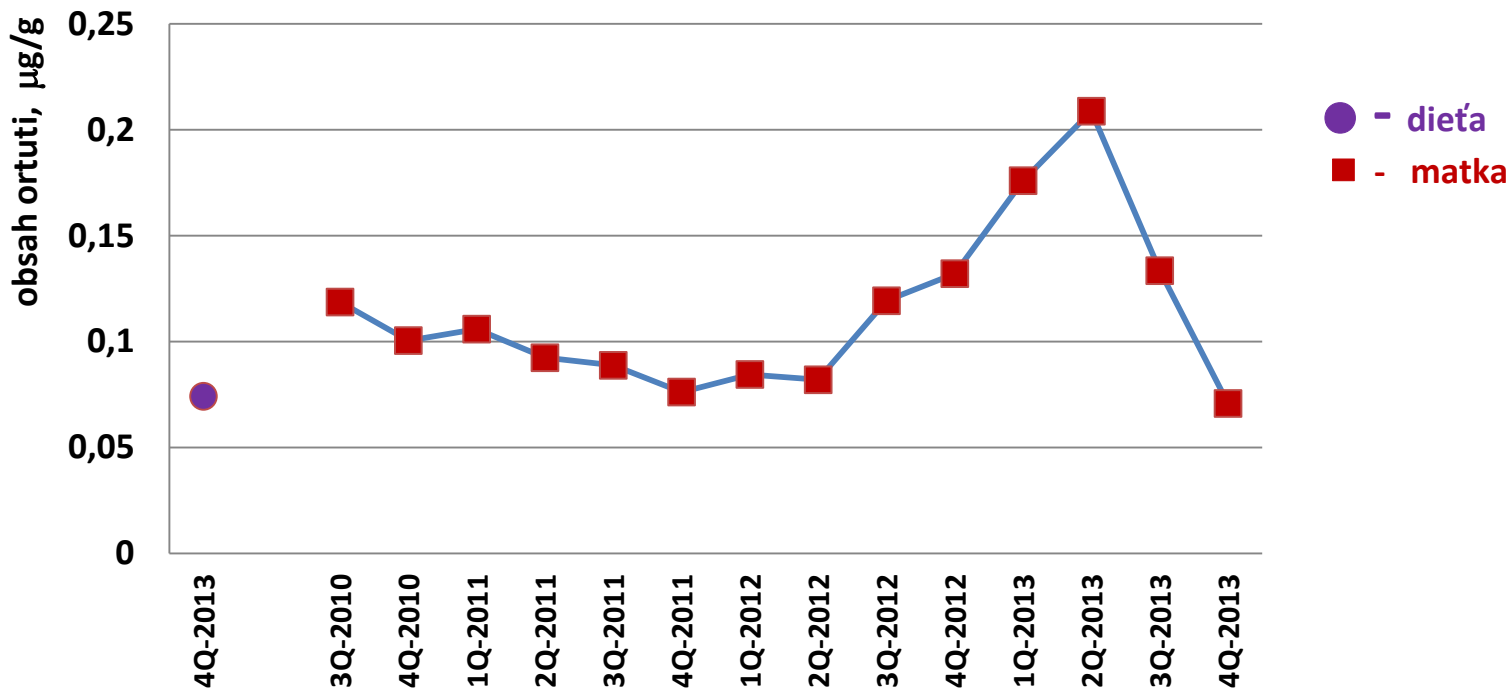


Pracovná expozícia ortuti

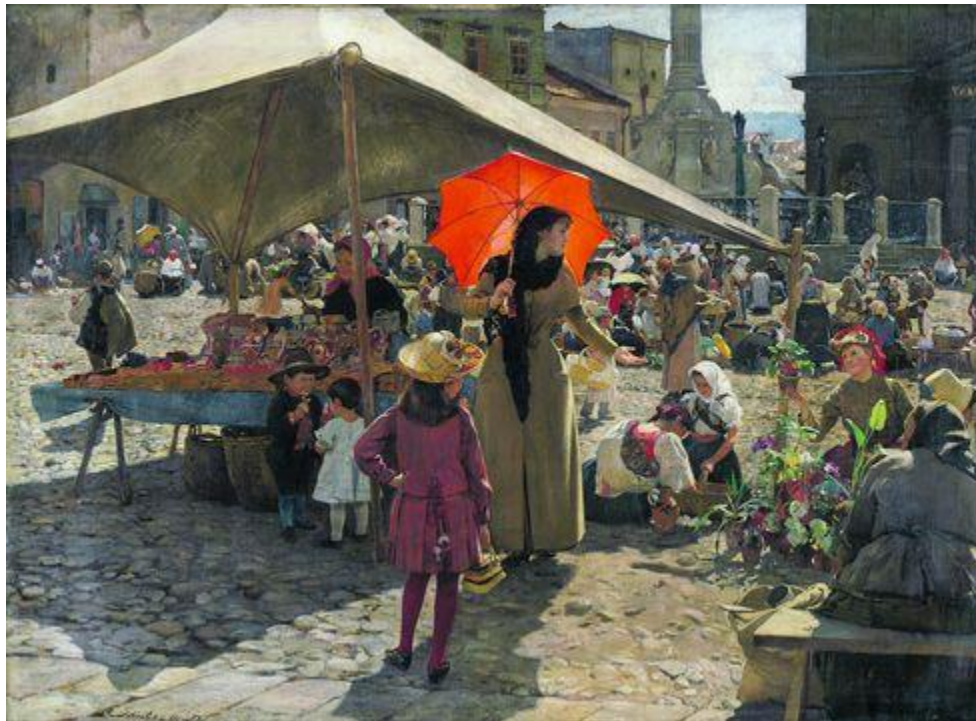
zubní lekári, zubní technici



Obsah ortuti v závislosti vzdialenosti od koreňa vlasov ku končekom



Ďakujem za pozornosť



daniela.borosova@vzbb.sk