

Činnosť NRC pre laboratórnu diagnostiku v oblasti ľudského biomonitoringu rok 2018

Ing. Daniela Borošová, PhD.

NRC pre laboratórnu diagnostiku v oblasti ľudského monitoringu

bolo zriadené MZ SR podľa §8 ods. 2 zákona č. 355/2007, Z. z. o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia a o zmene a doplnení niektorých zákonov v znení neskorších predpisov rozhodnutím Č.: Z25349-2013-OOš zo dňa 29. 5. 2013, s účinnosťou od 1. júla 2013

nadstavbová laboratórna diagnostika toxických chemických látok a ich metabolitov v ľudskom biologickom materiáli (krv, moč, vlasy, nechty)

zavádzanie nových laboratórnych metodík a diagnostických postupov

riešenie úloh a projektov na národnej aj medzinárodnej úrovni

vytvorenie biobanky pre dlhodobé uchovávanie vzoriek biologického materiálu

vytvorenie databanky pre archiváciu relevantných údajov a laboratórnych výsledkov

metodická a konzultačná činnosť

organizovanie odborných podujatí a školení v uvedenej problematike

publikovanie výsledkov

Biomonitoring

vedecký prístup, pri ktorom sa sleduje obsah toxického prvku, chemickej zlúčeniny alebo jej metabolitu, tzv. biomarkera v ľudskom biologickom materiáli, v telesných tekutinách (krv, moč, sliny, materské mlieko), alebo tkanivách (vlasy, nechty, kosti, tuk), a pod.

je v súčasnosti považovaný za najúčinnjší nástroj pre identifikáciu, kontrolu a prevenciu expozície populácie toxickým chemickým kontaminantom.

*www.cdc.gov/biomonitoring/ -
accessed March 2011*

Položka	Objekt skúšky		Zavedená metóda		Ostatné špecifikácie
	Predmet / Matrica / Prostredie	Vlastnosť / Parameter / Ukazovateľ / Analyt	Princíp / Druh / Typ	Označenie [x]	
36.	Biologický materiál moč	Hustota	priame meranie	ŠPP 141 [42,43]	
37.		Kreatinín	spektrofotometria	ŠPP 142 [44]	
38.	Biologický materiál krv, moč, vlasy	Olovo	ETAAS	ŠPP 35 [45]	
		Kadmium		ŠPP 35 [46,47]	
		Chróm			
		Nikel			
39.		Ortut'	CV AAS	ŠPP 37 [11,47]	
40.	Biologický materiál moč	Kyselina hipurová	HPLC - DAD	ŠPP 58 [48, 72]	
		Kyselina 2-metylhipurová			
		Kyselina 3-metylhipurová			
		Kyselina 4-metylhipurová			
		Kyselina mandľová			
		Kyselina fenylglyoxylová			
41.		1-hydroxypyren	HPLC - FLD	ŠPP 62 [49]	
42.		Kyselina t,t-mukonová	HPLC - DAD	ŠPP 70 [75-76]	

Spoločný konzultačný deň NRC pre xenobiťkú a HBM, 28.11.2018, UVZ SR



Metódy neakreditované

matrica	ukazovateľ	metóda
moč	acetón	GC FID
moč	kyselina δ -aminolevulová	fotometria
biologický materiál	aktivita cholinesterázy	fotometria
moč	fenol	fotometria
biologický materiál	kyselina trichlóroctová, trichlóretanol	fotometria
vlasý	nikotín	HPLC DAD
moč	kotinín	HPLC DAD
moč	fenol, o-krezol	HPLC FLD
materské mlieko	PCB kongenéry (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180)	GC-ECD
materské mlieko	chlorované insekticídy DDT a degradačné produkty DDE, DDD	GC-ECD
vlasý, nechty	arzén, antimón	ETA AAS, HG AAS
materské mlieko	vápnik	AES

Prehľad analýz za rok 2018

analyt	materiál	počet vzoriek
1-hydroxypyren	moč	10
kyselina t,t-mukonová	moč	137
kyselina hipurová	moč	4
kyselina metylhipurová	moč	2
kyselina mandľová	moč	14
kyselina fenylglyoxylová	moč	14
kreatinín	moč	155
hustota	moč	5
ortuť	vlasý	18
olovo, kadmium, chróm, nikel	vlasý	2
olovo	krv	3

Personálne obsadenie	Odbornosť/ zameranie
Ing. D. BOROŠOVÁ, PhD., <i>vedúca NRC</i>	laboratórny diagnostik, monitoring chemických prvkov (AAS)
Mgr. E. KRČMOVÁ <i>zástupkyňa vedúcej NRC</i>	laboratórny diagnostik, monitoring a organických a anorganických zlúčenín s používaním separačných metód kvapalinovej a iónovej chromatografie (HPLC, IC)
Mgr. K. JANÍKOVÁ	laboratórny diagnostik, monitoring organických zlúčenín s používaním plynovej chromatografie, (GC)
Ing. D. ŠALIGOVÁ	laboratórny diagnostik, monitoring ovzdušia v životnom a pracovnom prostredí a v oblasti biomonitoringu. Vykonáva akreditovaný odber vzoriek ovzdušia
doc. MUDr. E. FABIÁNOVÁ, PhD.	lekár, hygienička, pôsobiaca v odbore preventívneho pracovného lekárstva hodnotenie vplyvu znečisteného prostredia na zdravie obyvateľstva
doc. MUDr. K. SLOTOVÁ, PhD.	lekár, riešiteľka v oblasti zdravotných vplyvov z expozícií zo znečisteného životného prostredia s osobitným zameraním na zdravie detskej populácie
MUDr. Z. KLŔOCOVÁ ADAMČÁKOVÁ, PhD.	lekár, terénna práca, hodnotenie vplyvu znečisteného prostredia na zdravie

Monitorovanie zaťaženia detskej a dospeljej populácie polyaromatickými uhl'ovodíkmi v životnom prostredí regiónu Banská Bystrica

Východisková situácia

Polyaromatické uhľovodíky (PAU)

IUPAC - vytipovaných sledovaných 16 PAU,
najznámejší benzo[a]pyrén.

- Medzinárodná spoločnosť pre výskum rakoviny, benzo[a]pyrén (BaP), od roku 2012 - karcinogén kategórie 1, t.j. - **dokázaný ľudský karcinogén.**

Po vstupe do organizmu PAU podliehajú procesom
metabolizmu.

- biotransformačnými pochodmi dochádza k ich postupnej detoxikácii,
- v niektorých prípadoch sa PAU môžu aktivovať na ďaleko reaktívnejšie substancie, ktoré môžu reagovať s DNA, a tak ju poškodzovať.
- v metabolizovanej podobe sa vylučujú prostredníctvom stolice a moču.

Cieľ monitorovania

Zistiť expozíciu detskej a dospeljej populácie polyaromatickým uhl'ovodíkom analýzou

1-hydroxypyrénu v moči v dôsledku znečistenia vybratých častí miest a mestských aglomerácií automobilovou dopravou.

Cieľová skupina

žiaci vo veku
6-11 rokov

v miestach s hustou
automobilovou
dopravou

z vidieckeho prostredia
s menej rozvinutou
dopravou.

dvojice
dieťa-matka

predpokladajú sa
rovnaké, resp. veľmi
podobné vzorky
správania a životného
štýlu detí s ich
matkami

Predmet laboratórneho vyšetrovania

Odber vnútorného ovzdušia (indoor air)

- v školskom prostredí

Odber vonkajšieho ovzdušia (outdoor air)

- v prostredí školy

Odber ovzdušia vybraných lokalít v domácom prostredí žiakov

- (mestské aj vidiecke prostredie)

Analýza PAU vo vzorkách ovzdušia

- metódou HPLC-detektor doplniť

Odber vzoriek močov detí a matiek

Analýza 1-hydroxypyrenu v moči detí a ich matiek

- metódou HPLC – detektor doplniť

Existujúca infraštruktúra RÚVZ Banská Bystrica

Problematika PAU bola riešená v rámci projektu SYNERGY.

- štúdium interakcie expozície priemyselných karcinogénov pri vzniku karcinómu pľúc.
- zber a spracovávanie expozičných dát pre Európsku databázu ExpoSyn za obdobie rokov 1975-2006 pre priemyselné karcinogény: azbest, chróm, nikel, kryštalické SiO₂ a polyaromatické uhľovodíky.

COPHES (Consortium to Perform Human Biomonitoring on a European Scale)

- v rokoch 2010-2012 organizoval demonštračný projekt DEMOCOPHES na overenie harmonizovaného prístupu k humánnemu biomonitoringu (HBM),
- zúčastnilo sa 17 krajín EU,
- za SR - RÚVZ BB v spolupráci s ÚVZ SR
- vybrané biomarkery environmentálnej expozície
 - kadmium, metabolit nikotínu – kotinín, a metabolity ftalátov v moči
 - ortuť vo vlasoch u detí a ich matiek z mestskej a vidieckej oblasti v počte 240 vzoriek, (RÚVZ BB)

NRC pre laboratórnu diagnostiku v oblasti ľudského biomonitoringu (2013)

Existujúca infraštruktúra RÚVZ Banská Bystrica

Oddelenie chemických analýz Odboru laboratórií v RÚVZ Banská Bystrica - skúsenosti s analýzami PAU

- pri monitoringu pitných vôd stanovením 6 PAU vo vzorkách vôd,
- 16 PAU v pracovnom ovzduší,
- benzo(a)pyrénu v údených potravinách (rybách)
- ukazovateľom expozície PAU je 1-hydroxy-pyrén v moči ako metabolit pyrénu

Laboratórium separačných metód - HPLC

- kvapalinový chromatograf AGILENT 1100 (2004) a biologický termostat BT120.
- Uvedené zariadenie je však morálne a technicky zastarané a citlivostne nespĺňa požiadavky na stanovenie nízkych koncentrácií 1- hydroxypyrénu v detskom moči.
- nové zariadenie na zabezpečenie vyššej citlivosti stanovenia 1-hydroxypyrénu v moči u detskej populácie.

Akreditácia podľa normy STN EN ISO 17 025:2005, Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií

- od 17.5.2004 „Osvedčenie o akreditácii“

Existujúca infraštruktúra RÚVZ Banská Bystrica - personálna

**doc. MUDr. Eleonóra
Fabiánová, PhD.**

• vedecko-výskumná pracovníčka, slovenská lekárka a hygienička, pôsobiaca v odbore preventívneho pracovného lekárstva. Bola vedúcou riešiteľkou alebo koordinátorkou viacerých medzinárodných projektov zameraných na hodnotenie vplyvu znečisteného prostredia na zdravie obyvateľstva

**doc. MUDr. Katarína
Slotová, PhD.**

• vedecko-výskumná pracovníčka v problematike hygieny životného prostredia a hygieny detí a mládeže. Pracovala v medzinárodných projektoch ako spoluriešiteľka alebo riešiteľka v oblasti zdravotných vplyvov z expozícií zo znečisteného životného prostredia s osobitným zameraním na zdravie detskej populácie.

**doc. MUDr. Kvetoslava
Koppová, PhD.**

• vedecko-výskumná pracovníčka v oblasti hygieny životného prostredia a zdravia. Bola zodpovednou riešiteľkou a spoluriešiteľkou viacerých medzinárodných projektov zameraných na hodnotenie vplyvu prostredia na zdravie.

**Ing. Daniela Borošová,
PhD.**

• vedecko-výskumná pracovníčka v oblasti v oblasti objektivizácie faktorov životného a pracovného prostredia so zameraním na výskum monitoringu chemických prvkov metódou AAS vo vzorkách životného a pracovného prostredia.

Mgr. Eva Krčmová

• vedecko- výskumná pracovníčka v oblasti objektivizácie faktorov životného a pracovného prostredia so zameraním na výskumu monitoringu organických a anorganických zlúčenín s používaním separačných metód kvapalinovej a iónovej chromatografie.

Ing. Dagmar Šaligová

• vedecko-výskumná pracovníčka v oblasti monitoringu ovzdušia v životnom a pracovnom prostredí a v oblasti biomonitoringu. Vykonáva akreditovaný odber vzoriek ovzdušia.

Terénna práca

Dizajn štúdie

Typ štúdie:

- Pilotná štúdia – prierezová

Cieľová populácia:

- deti vo veku 6 – 11 rokov,
- po 5 detí v každej vekovej skupine
- 6 vekových skupín - 6,7,8,9,10 a 11 ročné deti
- a ich matky

Celková cieľová veľkosť súboru:

- 60 detí
- 60 matiek

Terénna práca

Dizajn štúdie

Výber

- vidiecka oblasť – 30 detí a 30 matiek
- mestská oblasť – 30 detí a 30 matiek

Minimálny súhlas

- Predpokladaný minimálny súhlas oslovených rodičov s účasťou v štúdiu: 30%

Minimálny počet

- Minimálny počet detí, ktoré je potrebné osloviť v každej sledovanej lokalite: 100

Zodpovedná

- doc. MUDr. K. Slotová, PhD.
- MUDr. L. Cortesová

Terénna práca

Výber detí

prostredníctvom škôl

výberové kritérium: roky
narodenia 2007 – 2012

osloviť na účasť v štúdiu všetky
deti v školách v sledovaných
vekových skupinách

Vylučovacie kritériá pre účasť detí v štúdiu:

☞ deti žijúce v inštitúciách: napr. detské
domovy, zariadenia sociálnych služieb

☞ deti žijúce v oblasti menej ako 5 rokov,

☞ deti majúce zdravotné problémy –
poškodenie pečene, obličiek,

☞ deti z imigrovaných rodín prijímať do
štúdie len na základe znalostí slovenského
jazyka matky,

☞ len jedno dieťa z každej rodiny

Terénna práca

Výber škôl

vidiecka oblasť

Ľubietová: ZŠ Ľubietová
počet obyvateľov: 1217
048/4195305

Poniky, ZŠ Poniky
počet obyvateľov: 1570
048/ 4193700

Hrochoť, ZŠ Hrochoť
počet obyvateľov: 1489
048/ 4190112

mestská oblasť

Banská Bystrica
počet obyvateľov: 76 639
048/4125950

- **Podmienky pre školy**
- nie výberové školy a súkromné školy,
- školy, ktoré navštevujú deti zo všetkých socio–ekonomických skupín
- školy ochotné participovať na štúdiu

Terénna práca

Nábor účastníkov štúdie a práca v teréne

**Začiatok:
September 2018**

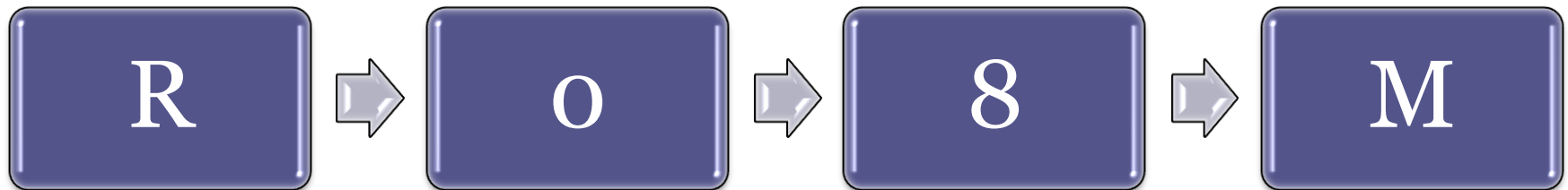
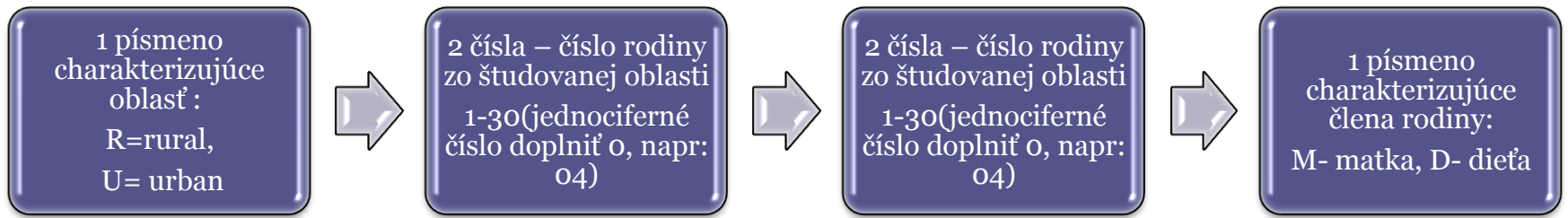
**Koniec:
Apríl 2019**

**január 2019 – marec 2019
v oboch lokalitách paralelne**

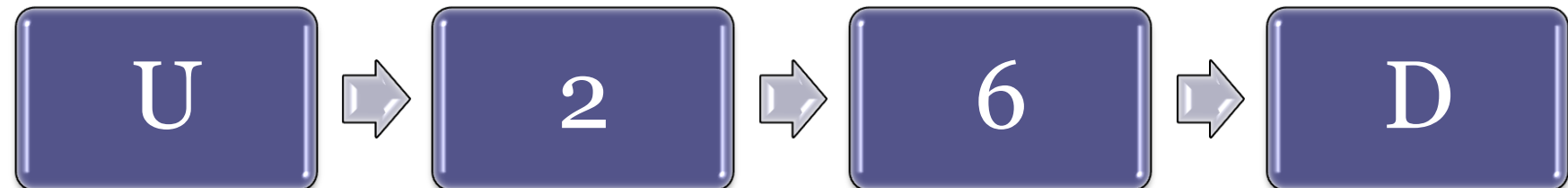
Týmto postupom bude zabezpečené, že vo všetkých prípadoch sa informácie prostredníctvom dotazníkov a biologický materiál - moč budú zbierať v tom istom období.

Terénna práca

ID čísla matky a dieťaťa



Ro8M - vidiecka oblasť, z rodiny č.8, matka



U26D – mestská oblasť, rodina č. 26, dieťa

Terénna práca

Definícia prípadu

**je odovzdaný informovaný
súhlas**

**sú splnené výberové kritériá
pre účasť v štúdiu**

matka - dieťa
je možné považovať
za prípad štúdie
vtedy, ak:

sú odovzdané vzorky moču

**je zodpovedaných aspoň 80
% otázok v základnom
dotazníku**

Terénna práca

odber ovzdušia-

Návšteva v domácnosti za účelom odberu ovzdušia

kladné vyjadrenie
k odberu ovzdušia

- pracovníci OCHA RÚVZ dohodnú s rodičmi odber ovzdušia v domácnosti

1. deň

- začiatok odberu popoludní o cca 16.00 hod.

2. deň

- koniec odberu v nasledujúci deň o cca 8.00 hod

Terénna práca

odber ovzdušia

Odber vzoriek PAU v ovzduší

- stacionárne, formou dvojstupňového odberu

Odberová aparátúra

- odberové čerpadlo na presávanie vzduchu
a dvojstupňová sonda na zachytávanie PAU
z ovzdušia

Dvojstupňová sonda

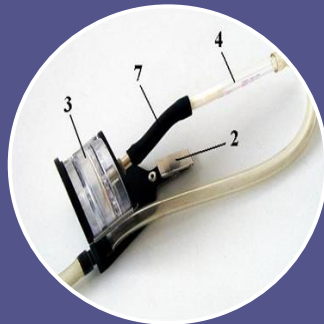
- odberová trubička XAD2 (záchyt plynnej
zložky)
- PTFE filter (záchyt aerosólu - pevnej zložky)

Terénna práca

odber ovzdušia - odberová aparatúra



odberové čerpadlo

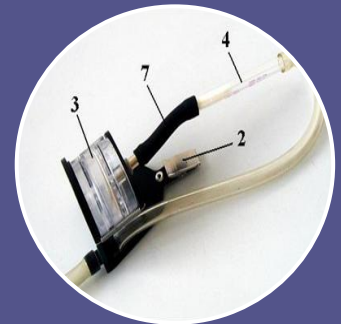


dvojstupňová sonda

- 2 - držiak
- 3 – hlavica s PTFE filtrom
- 4 – trubička XAD2
- 7 – spojovacia hadička



odberové
čerpadlo



dvojstupňová sonda

- 2 – držiak
- 3 – hlavica s PTFE filtrom
- 4 – trubička XAD2
- 7 – spojovacia hadička

Vnútorne prostredie

Vonkajšie prostredie

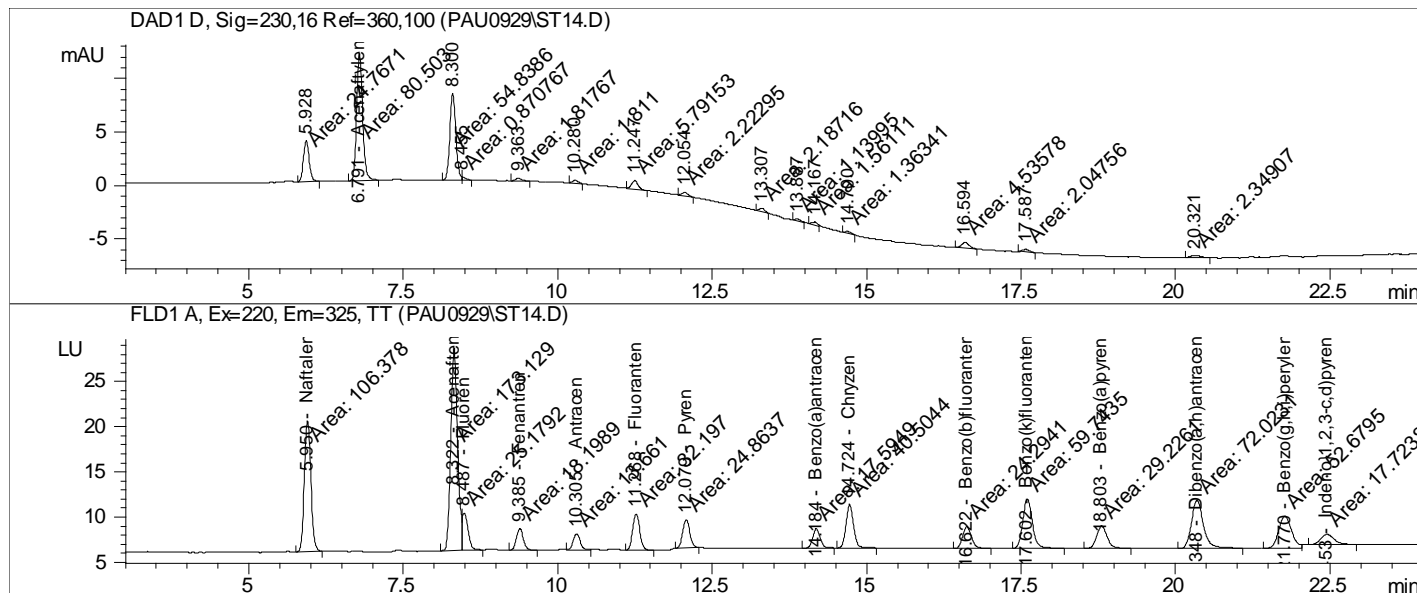
HPLC-DAD-FLD



on-line SPE – Agilent Technologies 1260 Infinity II

Chromatografický záznam separácie zmesi štandardu 16 PAU

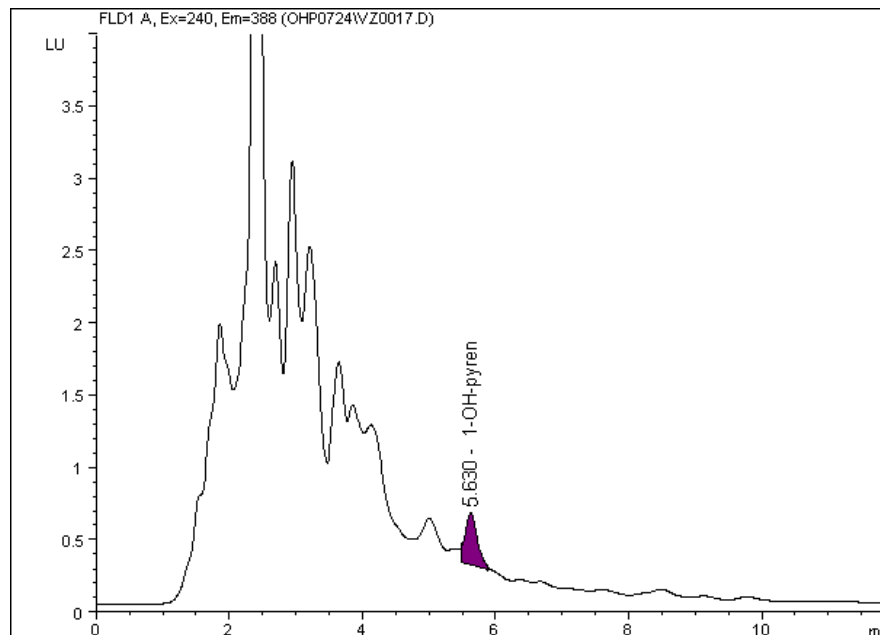
Signál z DAD – 1 PAU - Acenaftylén



Signál z FLD – 15 PAU

toho času validujeme metódu stanovenia 16 PAU v ovzduší a odskúšavame na reálnych vzorkách.

Chromatografický záznam separácie 1-hydroxypyrénu v reálnej vzorke moča



je záznam separácie 1-OH pyrénu v reálnej vzorke moča off-line SPE predúpravnou technikou. Toho času sa chystáme validovať separáciu štandardu, aplikovať separáciu na reálne vzorky s off-line SPE a následne zaviesť a validovať metódu s on-line SPE.

Ďakujem za pozornosť

borosova@vzbb.sk