

Riadenie kvality pri stanovení olova v krvi exponovaných pracovníkov

Daniela Borošová¹, Zuzana Klöslová¹, Jarka Dubajová²

¹Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici, Cesta k nemocnici 1, 975 56 Banská Bystrica, e-mail: daniela.borosova@vzbb.sk

²Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Nitre, Štefánikova 58, 949 01 Nitra e-mail: ocha@ruvznr.sk

Abstrakt

Podľa Nariadenia vlády č.355/2006 o ochrane zamestnancov pred rizikami súvisiacimi s expozíciou chemickým faktorom pri práci je zamestnávateľ povinný zisťovať prítomnosť nebezpečných chemických faktorov na pracovisku, posudzovať riziko vyplývajúce z týchto faktorov a prijať preventívne opatrenia na vylúčenie rizika alebo jeho zníženie na najnižšiu možnú mieru.

Nakoľko olovo je prvok, ktorého toxické účinky v životnom aj pracovnom prostredí sú známe stovky rokov, uvedené Nariadenie vlády definuje pre olovo v krvi a jeho iónové zlúčeniny závažnú aj indikatívnu biologickú hodnotu. Vzhľadom k závažnosti týchto hodnôt a jej dopadom na posudzovanie pracovných zdravotných rizík, je kvalita vykonaných analýz kľúčová pre správne a presné určenie obsahu olova v krvi. Na zabezpečenie kvality vykonaných analýz sa uskutočňuje celý rad činností a meraní vzoriek interného riadenia kvality, kalibrácia technikou prídavku štandardného roztoku, analýza vzoriek s prídavkom, kontrola vzoriek medzilaboratórneho porovnávacieho testu.

V práci je opísaná analytická metóda na stanovenie olova v krvi technikou AAS - úprava vzorky krvi, kalibrácia, analýza a vyhodnotenie odozvy olova. Olovo v krvi bolo analyzované v pracovnej skupine s rizikom expozície olovu, a na základe nameraných hodnôt boli prijaté preventívne opatrenia na zníženie rizika.

Kľúčové slová: olovo, krv, AAS, riadenie kvality

Úvod

Na zabezpečenie kvality vykonaných analýz sa v chemickom laboratóriu uskutočňuje celý rad činností a meraní vzoriek interného riadenia kvality, kalibrácia technikou prídavku štandardného roztoku, analýza vzoriek s prídavkom, kontrola vzoriek medzilaboratórneho porovnávacieho testu.

Experimentálna časť

Venózna krv bola odobraná do plastových ampuliek 2,7 mL Li-Heparín s obsahom EDTA proti zrážaniu krvi (SARSTEDT, Monovette). 200 µl vzorky krvi sa zmiešalo s 1200µl roztoku zmesného modifikátora (0,2 % HNO₃, p.a. a 0,5% NH₄H₂PO₄, v 0,4% TRITON - 100 p.a.) Po 5-minútovom státi sa vzorky krvi 6 min. centrifugovali pri 3000 otáčkach/min (1). Kvapalná vrstva sa preliala do vial nádobiek a analyzovala sa. Analýza olova bola vykonaná metódou atómovej absorpčnej spektrometrie na prístroji Perkin Elmer 4100 ZL s transverzálne ohrievaným grafitovým atomizérom so Zeemanovou korekciou pozadia z pyrolyticky pokrytých

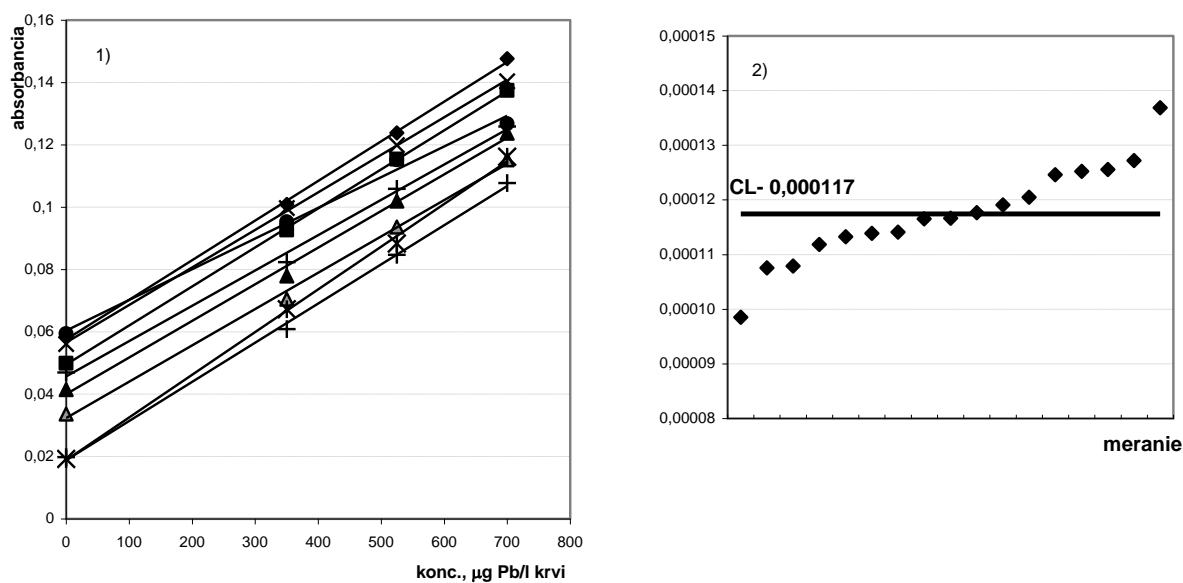
grafitových kyviat. Ako zdroj žiarenia bola použitá olovená výbojka s dutou katódou, merala sa absorbanca žiarenia o vlnovej dĺžke 283,3 nm. Na vyhodnotenie signálu olova sa použila integrovaná absorbanca použitím kalibrácie technikou prídavku štandardného roztoku.

Výsledky a diskusia

Kalibrácia predstavuje jednu zo základných úloh experimentálnej praxe. Porovnanie analytického signálu vzorky so signálmi získanými pomocou vonkajších štandardov je oprávnené iba vtedy, ak všetky vzorky a štandardy sú svojimi vlastnosťami rovnocenné. Nedostatočná selektivita analytických skúmadiel a metód má za následok, že analytický signál je ovplyvňovaný inými zložkami vzorky, napr. vplyvmi matrice, rozdielmi vo viskozite, iónovej sile. Uvedená skutočnosť sa dá zohľadniť vykonaním kalibrácie technikou prídavku štandardného roztoku.

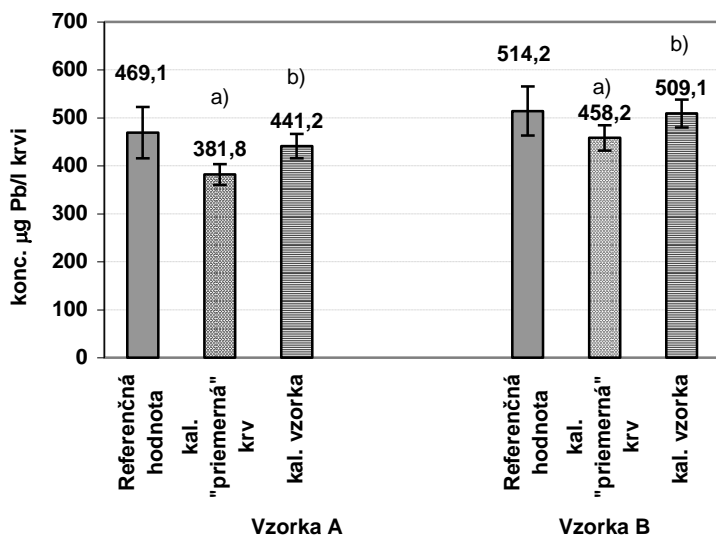
Softvér prístroja AAS PerkinElmer 4100ZL (2) umožňuje vykonanie kalibrácie tzv. method addition calibration, čo predstavuje vykonanie kalibrácie technikou prídavku štandardného roztoku k prvej vzorke v sérii vzoriek s rovnakou matricou a na vyhodnotenie analýz ostatných vzoriek sa použije takto získaná kalibračná závislosť. Táto metóda vyhodnotenia sa bohato využíva pri analýze série vzoriek s rovnakou matricou, kedy nie je nutné vykonávať kalibráciu do každej vzorky zvlášť, čím sa skraca čas analýzy a zvyšuje efektívnosť analytickej práce.

V sérii vzoriek krvi, $n=20$ bola vykonaná kalibrácia prídavkom štandardného roztoku olova ku každej upravenej vzorke krvi a obsah olova bol stanovený z takto pripravenej kalibrácie. Smernice kalibračných priamok boli následne štatisticky spracované a vyhodnotené. Ich hodnoty sa pohybujú v intervale od $9,85E-05$ do $0,000137$ a graficky sú znázornené na obr.1 Analyzované vzorky majú síce jednotnú matricu – krv, avšak práve zloženie krvi je jedinečné a zastúpenie jednotlivých zložiek môže spôsobovať variabilitu výsledkov. Z pohľadu daného analytického spracovania nemáme presne definovanú krv, tzv. „priemernú vzorku“, ktorá by sa mohla paušálne využiť na kalibráciu. Z uvedených úvah a na základe vykonaných analýz sme dospeli k poznatku, že pre správne vykonanie analýzy a stanovenie obsahu olova v krvi je nutné vykonať kalibráciu do každej vzorky zvlášť.



Obr.1. Kalibračné priamky (1) a ich hodnoty (2) pri stanovení olova v krvi technikou prídavku štandardného roztoku

Túto skutočnosť sme si overili na vzorkách krvi z medzilaboratórnej porovnávacej skúšky G-EQUAS 39, 2007 pre toxikologické analýzy v biologických materiáloch, ktorá bola organizovaná Inštitútom a klinikou pre ambulantných pacientov v oblasti klinickej, pracovnej, sociálnej a environmentálnej medicíny na Fridrich-Alexander-University Erlangen-Nuremberg, Nemecko.



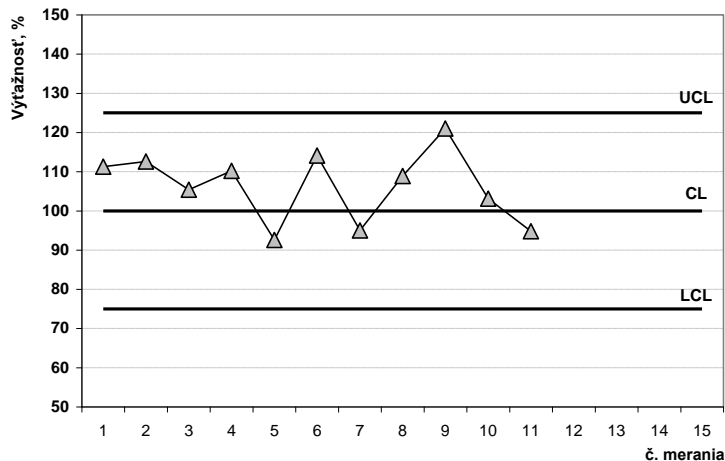
Obr.2. Vyhodnotenie odozvy olova pri kalibrácii dvoma spôsobmi: a) kalibrácia do „priemernej“ vzorky krvi, b) kalibrácia do každej vzorky zvlášť.

Správne hodnoty olova vo vzorkách sa dosiahli vtedy, ak sa kalibrácia vykonala do každej vzorky zvlášť. Naopak pri použití kalibrácie technikou prídavku štandardného roztoku do „priemernej krvi“ boli vyhodnotené odozvy mimo hraníc referenčnej hodnoty. Prehľad uvedených meraní je zhrnutý v tab.1 a graficky znázornený na obr.2.

Tab.1. Vyhodnotenie odozvy olova pri kalibrácii „priemernej“ vzorky krvi a do jednotlivých vzoriek zvlášť.

	Referenčná hodnota, test	Kalibrácia „priemerná“ krv		Kalibrácia priamo	
		Hodnota µg/l	Odchýlka %	Hodnota µg/l	Odchýlka %
Vzorka A	469,1 (415,7-522,5)	381,8	18,6	441,2	5,9
Vzorka B	514,2 (463,2-565,2)	458,2	10,6	509,1	1,0

Na zabezpečenie kvality meraní (správnosť a presnosť) sa vykonávala analýza krvi s prídavkom 100 µg/l olova do náhodne vybratej vzorky krvi pred analýzou. Porovnaním obsahu olova vo vzorke krvi bez prídavku a s prídavkom sa vyhodnotila výťažnosť nájdeného obsahu, pričom za vyhovujúce sa považovali hodnoty výťažnosti v intervale $(100 \pm 25)\%$, (UCL *upper control limit*, LCL - *low control limit*), ktoré sa zaznamenávali graficky. Graf takéhoto monitorovania je uvedený na obr. 3.



Obr.3. Regulačný graf na sledovanie výťažnosti prídavku 100µg/l olova do krvi

Nariadenie vlády č. 355/2006 o ochrane zamestnancov pred rizikami súvisiacimi s expozíciou chemickým faktorom pri práci (3) stanovuje pre olovo a jeho zlúčeniny (PbB) záväznú biologickú medznú hodnotu, ktorá nesmie byť prekročená vôbec, 700 µg Pb.l⁻¹ krvi, t.j. 3,4 µmol.l⁻¹. V prípade zistení, že hladina olova v krvi je väčšia ako 400 µgPb. l⁻¹ krvi (indikatívna biologická medzná hodnota) nameraná u jednotlivých pracovníkov, zabezpečí sa vykonanie cieľenej preventívnej lekárskej prehliadky podľa osobitného predpisu (5).

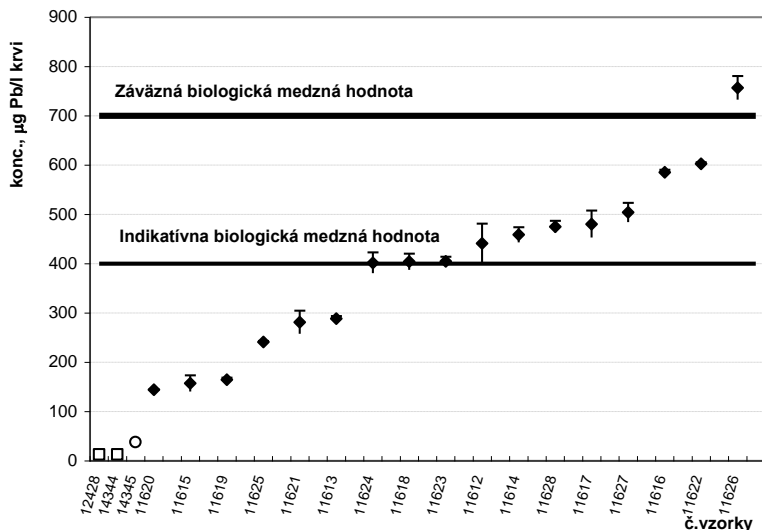
Metóda stanovenie olova v krvi a prezentovaný spôsob vyhodnotenia bol použitý pri analýze vzoriek krvi u pracovníkov s rizikom expozície olovu v závode na výrobu PVC rúr a pri príprave zmesí ($n=20$). Do vyšetrovaného súboru boli zaradené pracovné pozície, pri ktorých dochádza k priamej manipulácii s olovenými zlúčeninami pri príprave zmesí a PVC rúr a zahrňovali plastikárov, zoraďovačov, navažovačov, vodičov, manipulátorov automatov, prevádzkových zámočníkov a elektrikárov. Vzorky sa vyšetrovali v paralelnom vyhotovení. Výsledkom analýzy je priemer z dvoch stanovení spolu s neistotou merania, ktorá ohraničuje ($\pm 11,5\%$)-ný obojstranný interval najpravdepodobnejšieho výskytu hľadanej koncentrácie.

Vo vyšetrovanom súbore u dvoch pracovníkov nebolo olovo detekované, tzn. že nameraná hodnota olova v krvi bola nižšia ako limit dokázateľnosti metódy (LOD, 13µg/l), v jednom prípade bol obsah klasifikovaný ako <38µg/l, čo predstavuje hodnotu olova v intervale medzi limitom dokázateľnosti a limitom stanoviteľnosti (LOQ, 38µg/l). Indikatívna biologická medzná hodnota 400 µg Pb/l bola prekročená v 10 prípadoch a záväzná biologická medzná hodnota 700 µg Pb/l bola prekročená v jednom prípade. Výsledky sú graficky znázornené na obr.4.

Parametre metódy (4) a spôsob určenia neistoty, ktorý vychádza z validačných dát je detailne opísaný v práci (5).

Na základe zistených hodnôt olova v krvi boli zamestnanci na tomto pracovisku rozdelení do troch skupín. V prvej skupine ostali pracovníci s výsledkami uspokojivými, v druhej skupine dosahovali hodnoty olova v krvi hraničné hodnoty a do tretej skupiny boli zaradení pracovníci, u ktorých bol limit olova prekročený.

Následne boli prijaté opatrenia na zamedzenie rizika expozície olovu pri práci. Zamestnanci zaradení do tretej skupiny museli byť bezodkladne preradení na pracovisko, kde nebudú prichádzať do styku s olovom. U zamestnancov zaradených v druhej a tretej skupine bola nariadená opakovaná lekárska prehliadka. Mali byť preukázateľne poučení o dodržiavaní



Obr. 4. Namerané hodnoty koncentrácie olova v krvi

základnej osobnej hygieny, správnej životosprávy, obmedzení fajčenia a obmedzení konzumácie alkoholických nápojov. Zamestnanci boli upozornení na používanie predpísaných a pridelených osobných ochranných pracovných pomôcok (OOPP – používanie respirátorov a pracovných odevov). Na pracovisku bolo nariadené zabezpečiť pravidelné vysávanie prašných podielov, vykonanie kontroly funkčnosti a účinnosti odsávacích zariadení a vybavenie kontajnerov vhodným krytom na zamedzenie uvoľňovania prachových častíc.

Záver

Ochrana verejného zdravia prostredníctvom starostlivosti o zdravé životné a pracovné podmienky, ktoré nepôsobia nepriaznivo na zdravie ľudí, ale ho chránia a kladne ovplyvňujú, patrí medzi základné pojmy Zákona NR 355/2007 SR o ochrane, podpore a rozvoji verejného zdravia. V prípade olova ide o stále aktuálnu problematiku profesionálnej expozície a rizika ohrozenia zdravia pri práci. Pri dosiahnutí limitných hodnôt vyplývajú pre zamestnancov aj zamestnávateľov organizačné, pracovno-právne, investičné zásahy aj opatrenia osobnej disciplíny. Preto je správne a presné určenie hodnôt olova v krvi exponovaných pracovníkov pomocou vhodnej metódy jedným zo zásadných krokov pri uplatňovaní požiadaviek Nariadenia vlády.

Literatúra

1. Morton, S.: *Lead in whole blood*. Atom. Spectr., 2000, 12, 5, 24-28.
2. *Atomic Absorption Laboratory Benchtop, User's Guide*. Perkin Elmer, Ueberlingen, 1992.
3. *Nariadenie vlády č. 355/2006 Zb. Nariadenie vlády Slovenskej republiky o ochrane zamestnancov pred rizikami súvisiacimi s expozíciou chemickým faktorom pri práci*.
4. Borošová, D., Klöslová, Z., Dubajová, J.: *Stanovenie olova v krvi exponovaných pracovníkov a zabezpečenie kvality meraní*. Zborník v tlači. V. Martinské dni hygieny – Verejné zdravotníctvo, Martin, nov. 2007.
5. Borošová, D., Klöslová, Z.: *Estimating uncertainty and lead quality determination in blood in the occupational exposure*. Transactions of the Universities of Košice, 2-3/2006.