

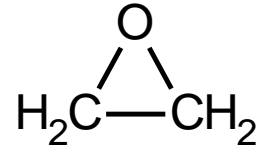
Nový postup stanovení N-(2-hydroxyethyl)valinu v globinu pracovníků exponovaných ethylenoxidu



**J. Mráz, I. Hanzlíková, Š. Dušková, L. Dabrowská,
H. Chrástecká, M. Tvrdíková, R. Vajtrová**

Státní zdravotní ústav, Praha

Ethylenoxid (EO)



Fyzikálně-chemické vlastnosti

- za normální teploty plynná látka (bod varu 10,7 °C)
- neomezeně rozpustný ve vodě
- za nízkých koncentrací bez zápachu
- chemicky reaktivní
- krátký biologický poločas (10-40 min)

Použití

- meziprodukt v chemickém průmyslu
- sterilizace zdravotnického materiálu

Zdroje expozice

- **sterilizace zdravotnického materiálu**
- chemické výroby a petrochemie
- cigaretový kouř
- expozice ethylenu

Akutní účinky (při vysokých koncentracích)

- mírné dráždění očí, sliznic, dýchacích cest
- bolesti hlavy, nevolnost

Mutagenita, genotoxicita a karcinogenita

- mutagenní a genotoxický in vitro a in vivo
- profesionální expozice: leukemie, lymfomy, nádory i v dalších orgánech (???)
- chromosomové aberace
- karcinogen třídy 1 (IARC)

Přípustný expoziční limit (PEL)

- 1 mg/m³ (ČR), ostatní státy často 1 ppm (1.8 mg/m³)

Čichový práh

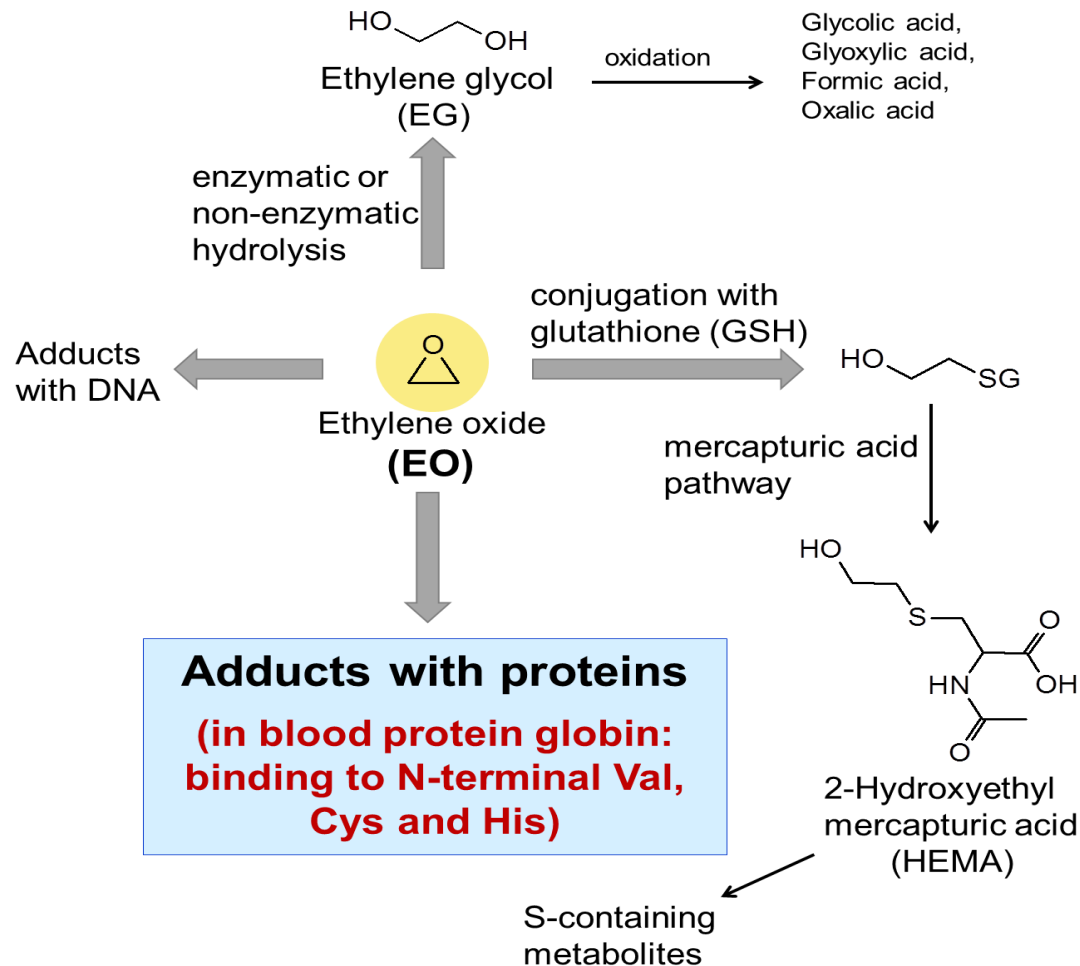
- 700 mg/m³ (tj. zápach nevaruje před nadměrnou expozicí)

Hodnocení profesionální expozice chemickým látkám

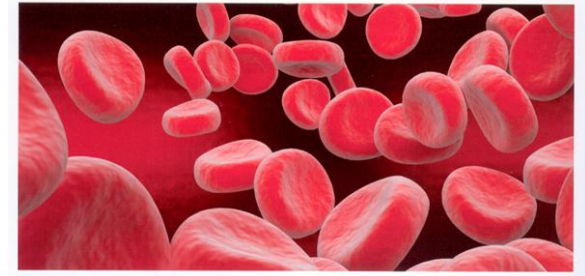


**Monitorování škodlivin v pracovním ovzduší
nebo biologické monitorování?**

Přeměny EO v organismu: možnosti pro biologického monitorování ?

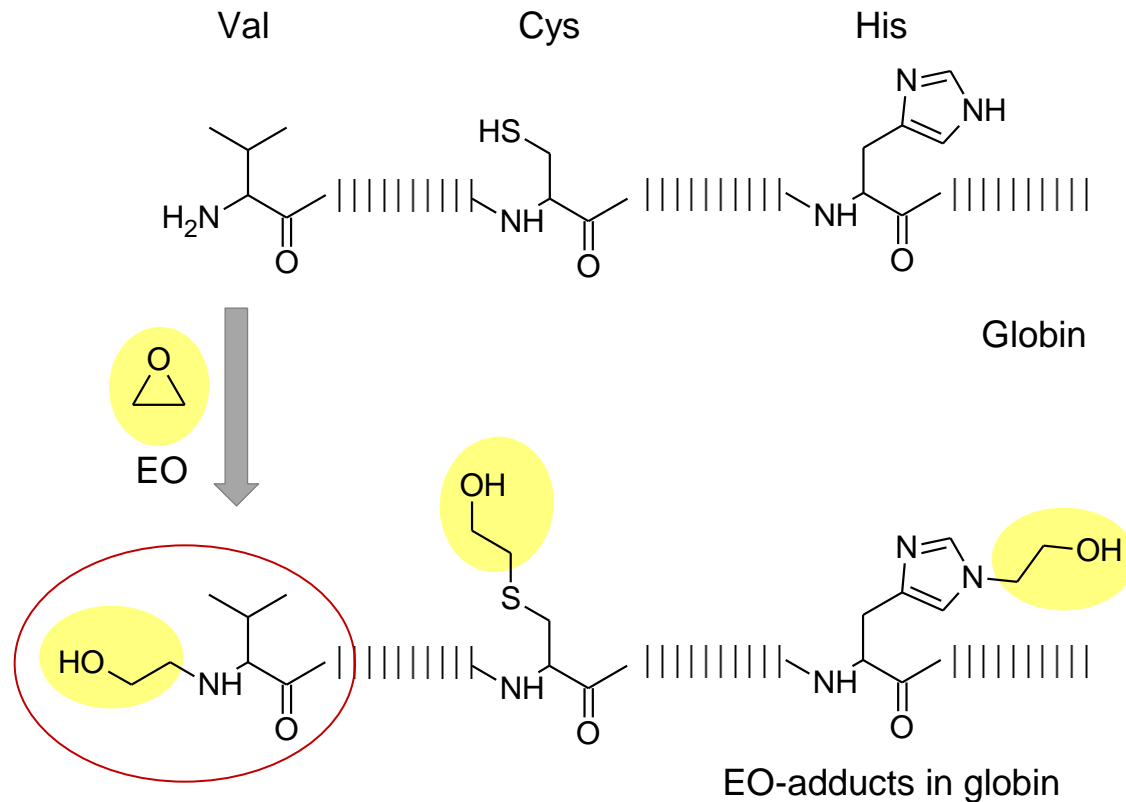


Proč adukty s globinem?



- **Vhodná náhrada za adukty s DNA**
- **Dlouhodobá persistence v organismu po celou dobu života erythrocytů (u člověka ca. 125 dní)**
- **Dostupnost v dostatečném množství (140 mg/ml krve)**
- **Zavedené analytické postupy**
- **Doporučené pro hodnocení expozice na pracovištích (biologické limity, BET)**
- **Použitelné pro alkylační činidla (např. **epoxidy**), arylaminy, isokyanáty, N,N-dimethylformamid**

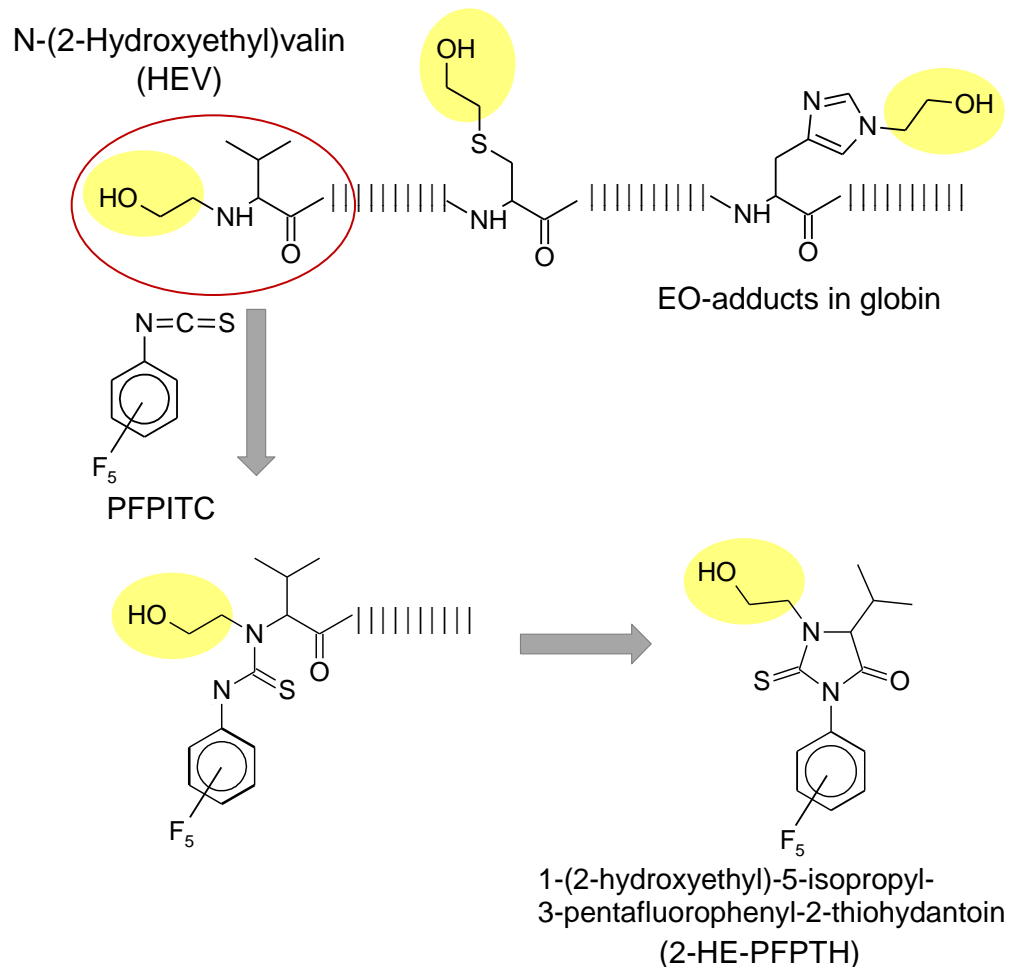
Vazba EO na nukleofilní aminokyseliny globinu



**N-(2-hydroxyethyl)valin
(HEV)**

Stanovení 2-(hydroxyethyl)valinu v globinu

Modifikovaná Edmanova degradace (MED) + GC/MS



Stanovení HEV v legislativě ČR

Vyhláška MZ č. 432/2003 Sb v platném znění (107/2013 Sb.), kterou se stanoví podmínky pro zařazování prací do kategorií, limitní hodnoty ukazatelů BET, podmínky odběru biologického materiálu pro provádění BET a náležitosti hlášení prací s azbestem a biologickými činiteli

Příloha č. 2 Limitní hodnoty ukazatelů BET

Tabulka č. 2 Limitní hodnoty ukazatelů biologických expozičních testů v krvi

Látka v krvi	Ukazatel	Limity	Doba odběru
Ethylenoxid	N-(2-Hydroxyethyl) valin v globinu	0,3 µg/g globinu 1,9 nmol/g globinu	nerozhoduje

Stanovení HEV v globinu osob exponovaných EO (pracovníci průmyslové sterilizovny, n=14)

měření **MED**(2/2012)

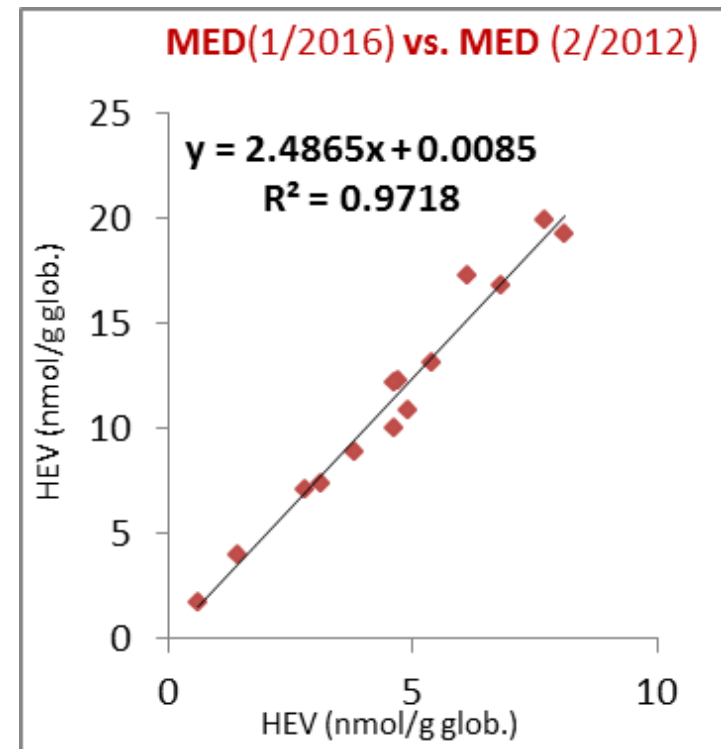
Vzorek	HEV (nmol/g glob)
H040	3.1
H041	3.8
H042	6.1
H043	5.4
H044	7.7
H045	4.7
H046	6.8
H047	2.8
H048	8.1
H049	4.6
H050	1.4
H051	4.6
H052	0.6
H053	4.9

Stanovení HEV v globinu osob exponovaných EO

(pracovníci průmyslové sterilizovny, n=14)

měření **MED**(2/2012)

Vzorek	HEV (nmol/g glob.)
H040	3.1
H041	3.8
H042	6.1
H043	5.4
H044	7.7
H045	4.7
H046	6.8
H047	2.8
H048	8.1
H049	4.6
H050	1.4
H051	4.6
H052	0.6
H053	4.9



■ Špatná reprodukovatelnost stanovení HEV metodou MED

pravděpodobná příčina: malá robustnost metody

Princip metody MED:

derivatizace s nekompletním výtěžkem, který závisí na reakčních podmínkách

Požadován reprodukovatelný výtěžek derivatizace

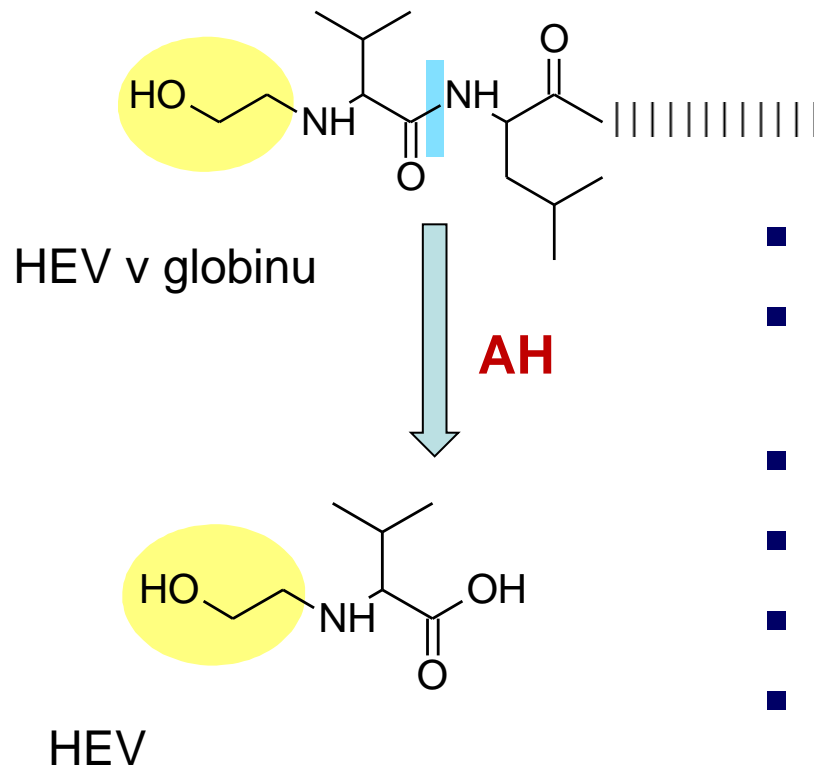
- vlastního globinového aduktu
- kalibračního standardu
- vnitřního standardu

Alternativní postup stanovení HEV?

Totální kyselá hydrolýza globinu (AH) + HPLC/MS

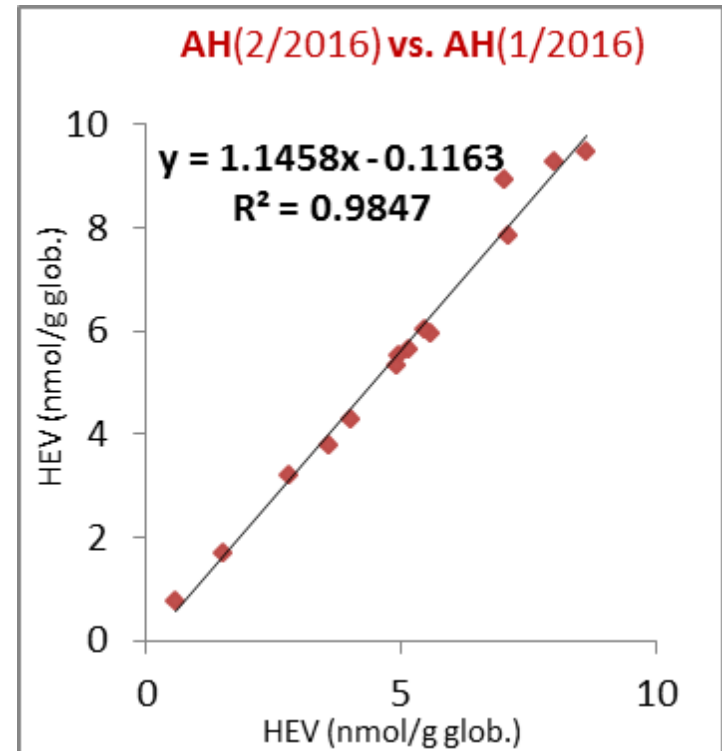
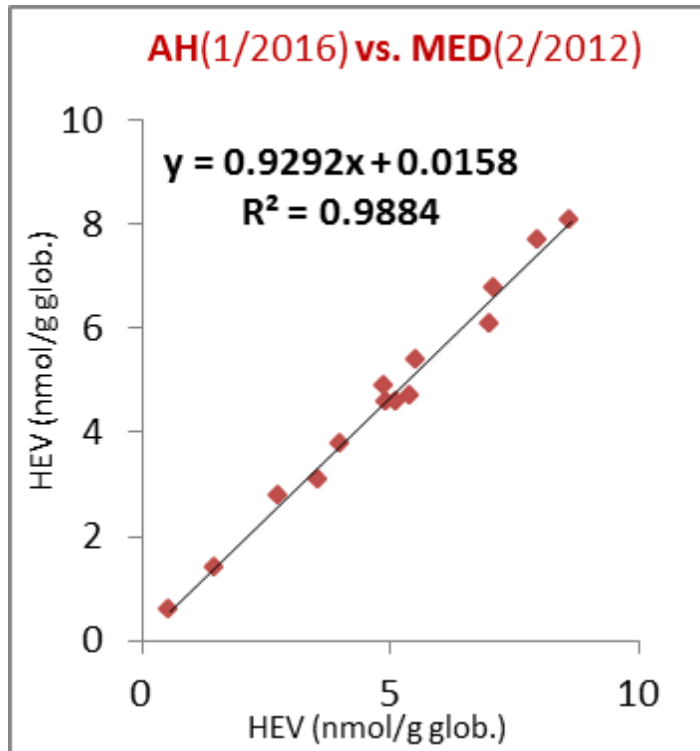
univerzální metoda pro stanovení stabilních aduktů v proteinech

Kyselá hydrolýza (AH) globinu



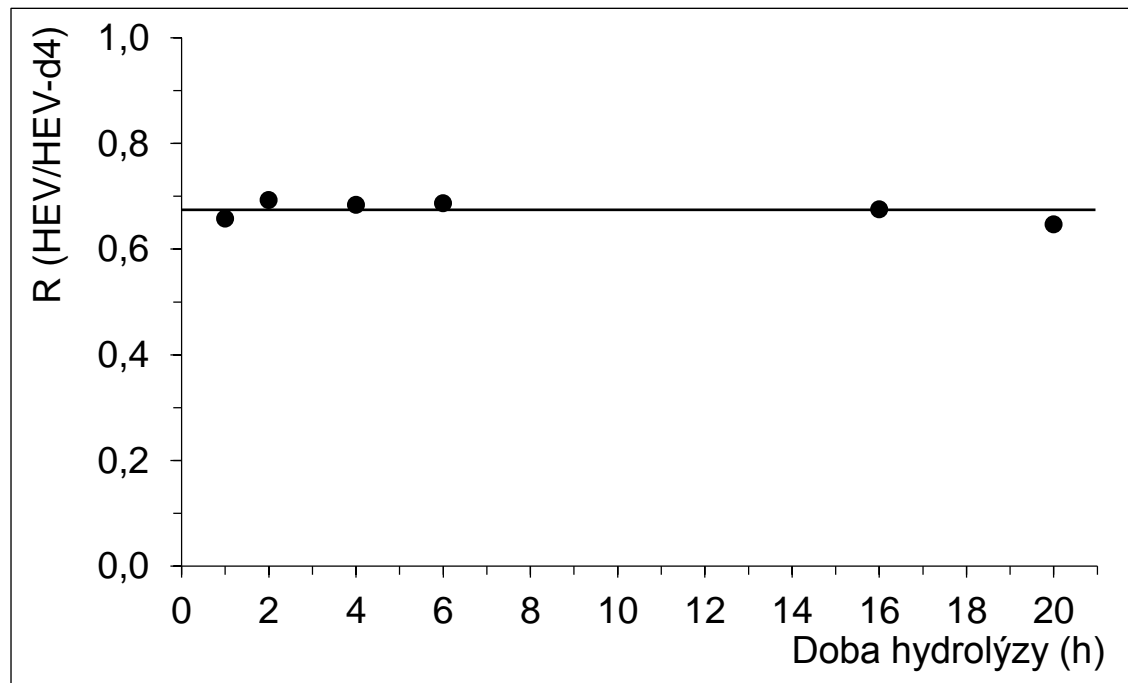
- 5 mg globinu
- přídavek vnitřního standardu (HEV-d₄)
- 1 ml 12 M HCl
- hydrolýza 100 °C x 16 h
- odfoukání HCl dosucha
- rozpuštění odparku
- HPLC/MS analýza

Stanovení HEV v globinu osob exponovaných EO (pracovníci průmyslové sterilizovny, n=14)



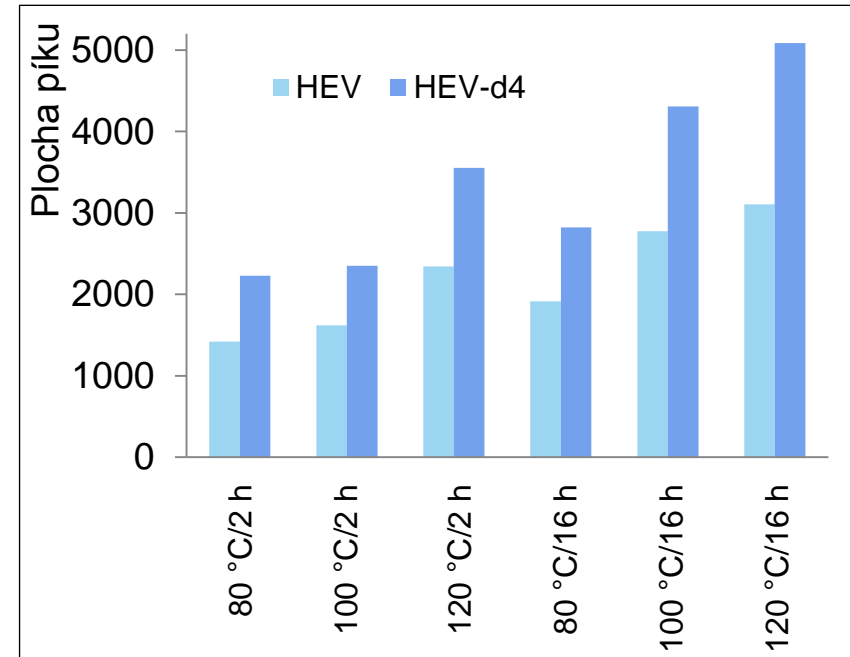
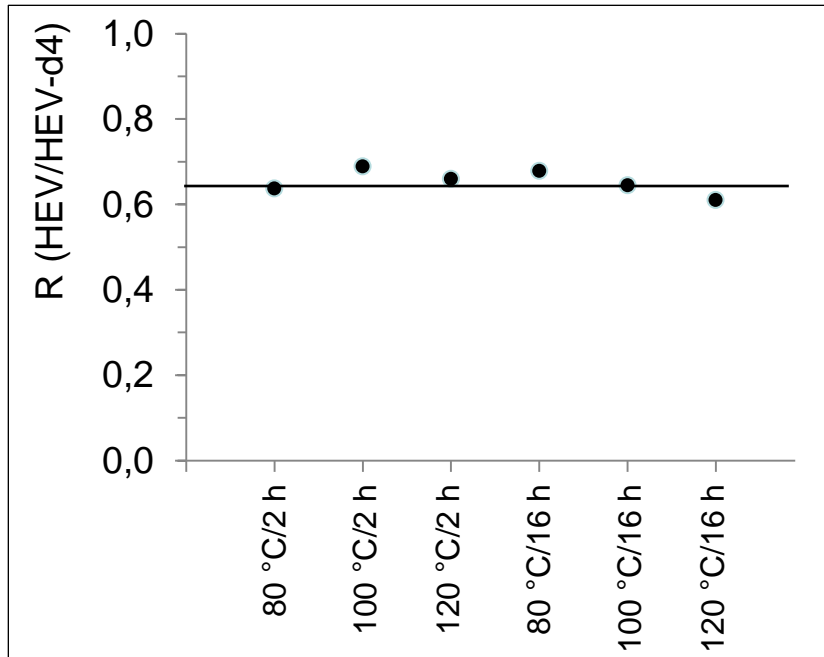
Optimalizace podmínek hydrolýzy při stanovení HEV

Vliv doby hydrolýzy na výtěžek HEV (analýza „exponovaného“ globulinu)



Optimalizace podmínek hydrolýzy při stanovení HEV

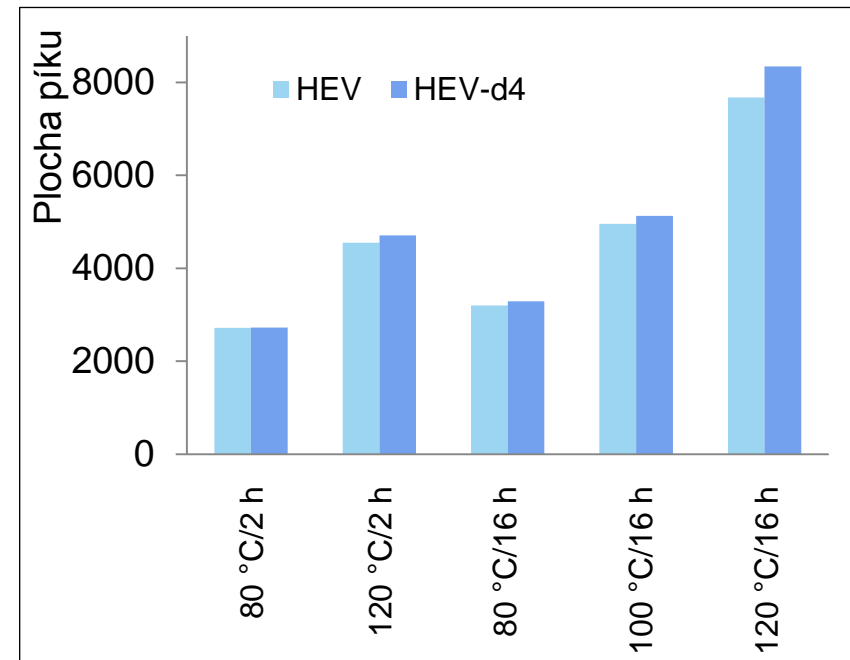
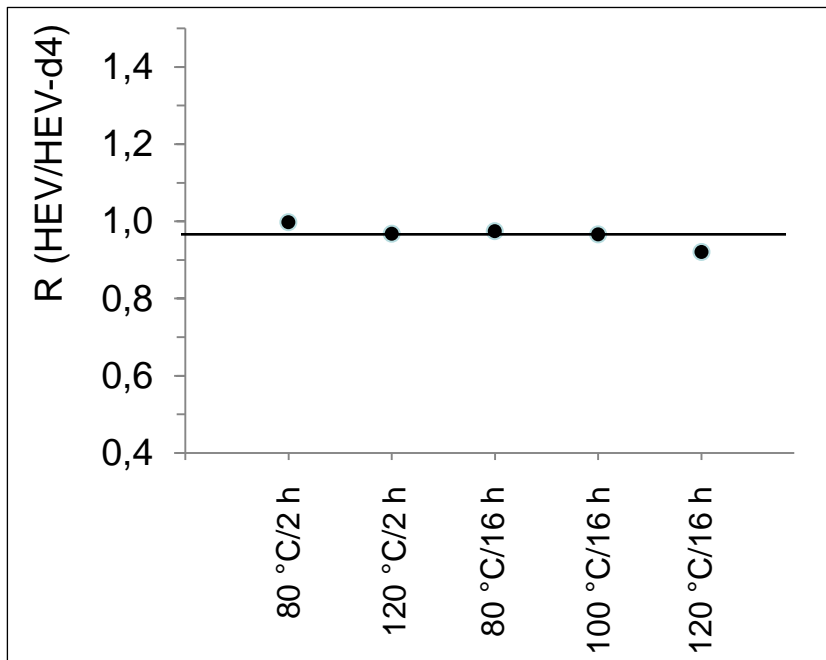
Vliv teploty a doby hydrolýzy na výtěžek HEV (analýza „exponovaného“ globinu)



Optimalizace podmínek hydrolýzy při stanovení HEV

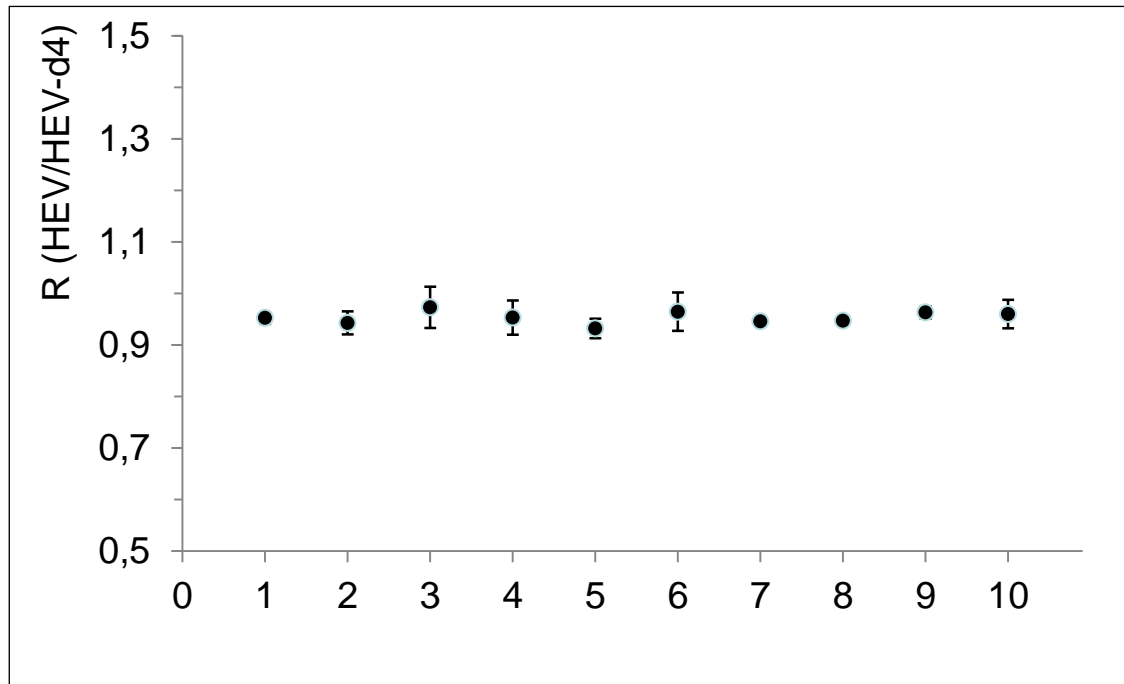
Vliv matricového efektu

(konstantní přídavky HEV a HEV-d₄ ke kontrolnímu globinu)



Reprodukovatelnost stanovení HEV

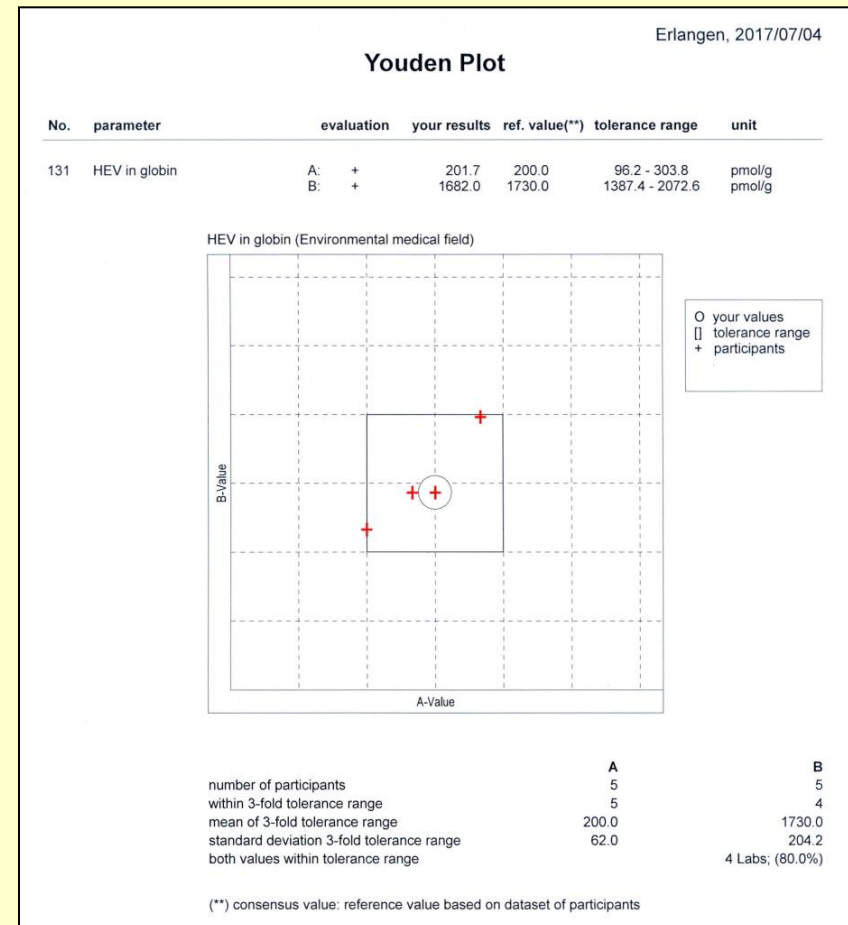
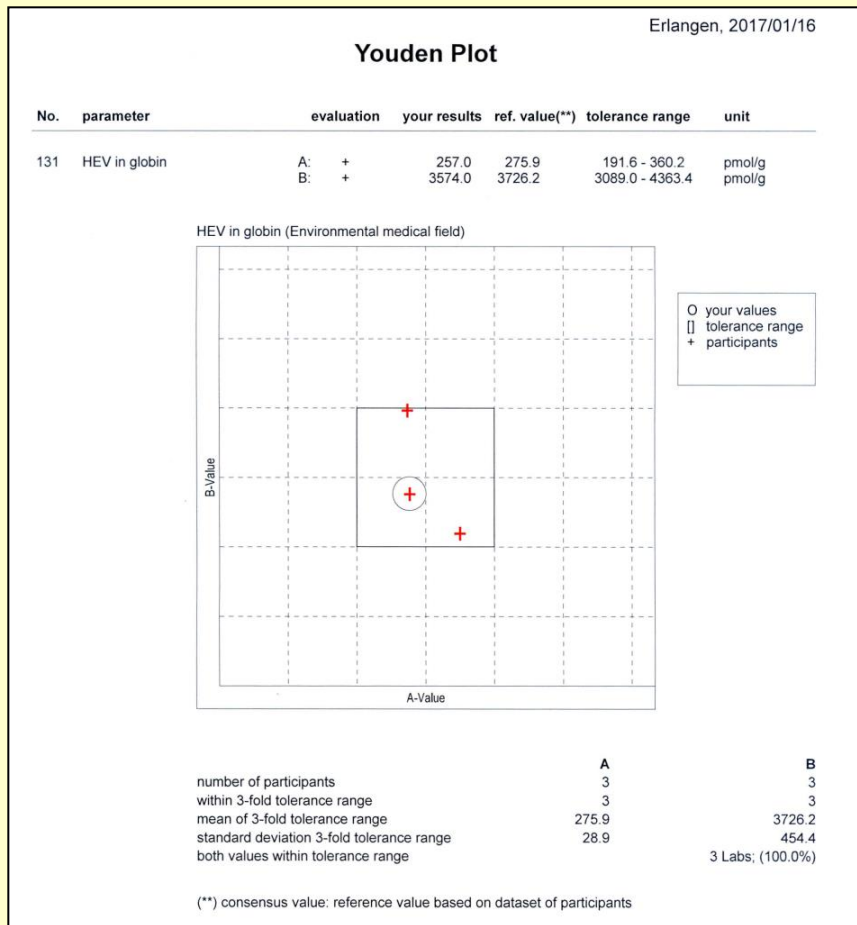
10 vzorků kontrolního globinu s konstantními přídávky HEV a HEV-d₄



Účast na MPZ (G-EQUAS, University of Erlangen)

1/2017

7/2017



Poděkování

Projekt institucionálního výzkumu
RVO-SZÚ (2016 – 2017)

European Regional Development Fund (ERDF)
IOP Reg. No. CZ.1.06/3.2.01/11.08435.