

EKOTOXIKOLOGICKÉ ÚČINKY VYBRANÝCH REZIDUÍ, EKOTOXIKOLOGICKÉ TESTY

Klára Kobetičová

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Fakulta technologie ochrany prostředí
Ústav chemie ochrany prostředí

*Centralizovaný rozvojový projekt MŠMT č. C29:
„Integrovaný systém vzdělávání v oblasti výskytu a eliminace reziduí léčiv v životním prostředí“*



OSNOVA

- Ekotoxikologie
- Základní principy – rozdělení, metodika, používané testy - baterie
- Léčiva a jejich studium – obecně versus ekotoxicita
- Vybraná léčiva
- Osud v prostředí – voda, půda, koloběh
- Biodostupnost v prostředí
- Ekotox testy použitelné v praxi pro testování ekotoxicity léčiv
- Vybrané efekty léčiv
- Možnosti odstranění léčiv z životního prostředí

EKOTOXIKOLOGIE

- Ekotoxikologie – multidisciplinární obor, studium efektů antropogenních a environmentálních vlivů na nehumánní druhy od sub-buněčné až po ekosystémovou úroveň

Odborné databáze: „ecotoxicity-pharmaceuticals“
více než 1 500 odborných článků

Vývoj testů od poloviny minulého století – vývoj nových pesticidů a léčiv, vznik odpadů a neúmyslné uvolňování chemických látek do prostředí při spalování, průmyslové výrobě a spotřebě.

První testy – akvatické – ryby, řasy, korýši
QSARs – alternativní metody

EKOTOXICITA

- Vlastnost chemických látek či jejich směsí, odpadů a jejich výluhů a odpadních vod
- Vyjádření ekotoxicity – pomocí různých indexů toxicity (NOEC, LOEC, EC/LC₀₋₁₀₀)

Podstata provedení testů ekotoxicity:

Srovnání míry účinku testované látky/materiálu s kontrolní skupinou, která je vystavena stejným podmínkám testování ale bez přítomnosti chemikálie/materiálu.

NOEC = testovaná koncentrace, která ještě nezpůsobila statisticky významný efekt v porovnání s kontrolou.

LOEC = testovaná koncentrace, která již způsobila statisticky významný efekt v porovnání s kontrolou.

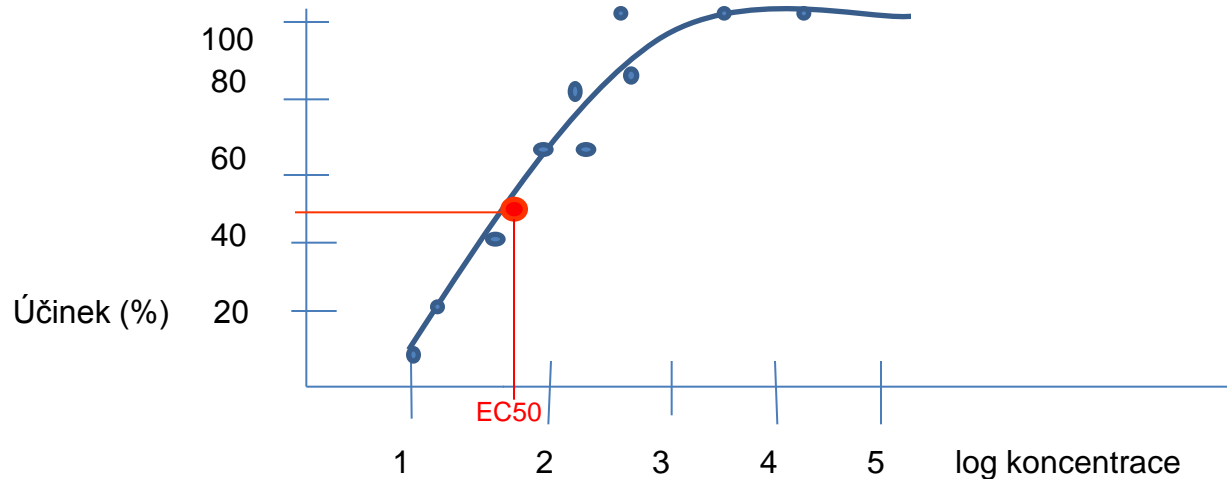
LC_x = vypočítaná koncentrace, která způsobila x% statisticky významnou mortalitu v porovnání s kontrolou

E(I)C_x = vypočítaná koncentrace, která způsobila x% statisticky významný efekt v porovnání s kontrolou odlišný od mortality.

INDEXY TOXICITY

Indexy toxicity musí být vypočteny relevantní statistickou metodou.

Statistické programy běžně používané pro výpočet indexů:
Statistica for Windows, Ekotoxicta, GraphPad, ...



TESTOVÁNÍ

- Provedení testů ekotoxicity:
 1. krok – zjištění všech dostupných informací o testované látce/směsi/materiálu z odborné literatury či od výrobce/dodavatele látky/vzorku
 2. krok – provedení potřebných analytických stanovení (fyzikálně-chemické vlastnosti, persistence/degradace látky, (bio)akumulační schopnosti, ...)
 3. krok – na základě zjištění z předchozích kroků navrhnout design testování a baterii testů. Většinou se nejdříve provede otestování 100% materiálu či výluhu z něj či otestování jedné koncentrace v závislosti na fyzikálně-chemických vlastnostech látky (např. koncentrace odpovídající nejvyšší rozpustnosti látky ve vodě). Dále poté ověření získaného výsledku anebo otestování koncentrační řady (resp. zředění) k postupnému získání indexů toxicity, na základě kterého lze rozhodnout, zda a jak moc je látka nebezpečná pro životní prostředí či nikoliv.

TESTY EKOTOXICITY

- Základní rozdělení:
 - podle délky expozice – krátkodobé, dlouhodobé
 - podle účinku – akutní, chronické
 - podle použitého modelového organismu
(mikroorganismy, rostliny, bezobratlí, obratlovci)
 - podle místa účinku – buňky, tkáně, orgány, organismy, populace
 - podle testovacího média (akvatické, půdní testy)
 - podle stáří organismů – vajíčka, mláďata, dospělí jedinci
 - podle pohlaví jedinců – hermafrodité, gonochoristé - samci/samice

TESTY EKOTOXICITY

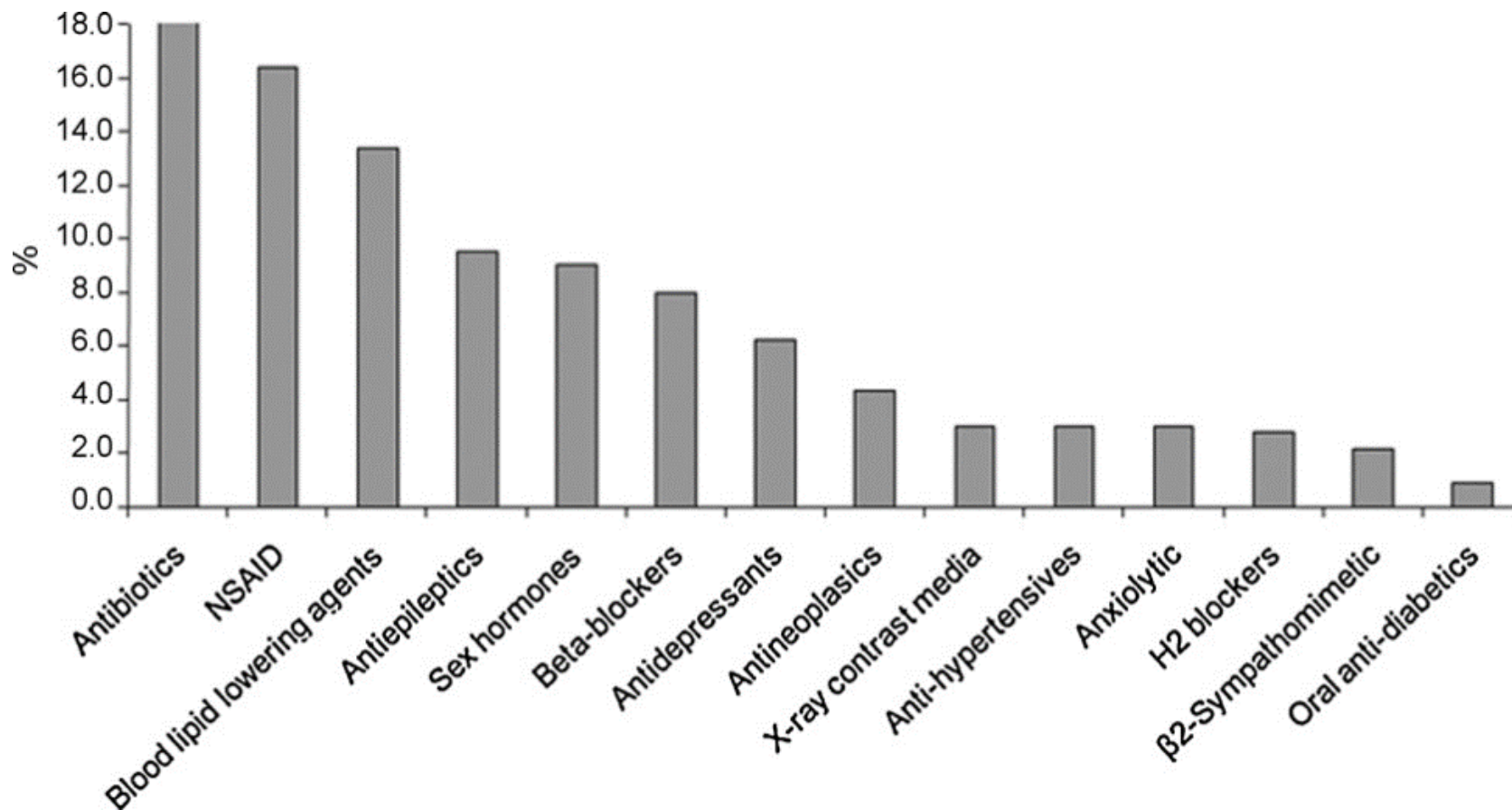
- K testování čistých chemických látek či jejich směsí, odpadů a jejich výluhů i odpadních vod je třeba vždy použít baterii testů ekotoxicity.
- Základní složení: test s destruenty (mikroorganismy), producenty (rostlinami) a konzumenty (většinou bezobratlí), v případě půdních testů se často jedná o půdní dekompozitory (např. žížaly, roupice, hmyz, chvostoskoky).
- Různé organismy – různá citlivost!
- Intra-specifická citlivost (mezi jedinci jednoho druhu)
- Vliv na ekotoxické účinky mají biologické/ekologické nároky testovacího organismu, chemická struktura a osud polutantu v prostředí.

ZÁKLADNÍ SKUPINY

- Hormonální antikoncepce
- Antibiotika
- Léky tlumící horečku, zánět a bolest
- Léky proti duševním poruchám
- Léčiva používaná při chemoterapii a v onkologii (cytostatika)
- Dezinfekční prostředky
- Diagnostické látky
- Podpůrné prostředky – doplňky výživy, vitamíny, homeopatika?
- Drogy
- Léky obsahující nanočástice

SÚKL: počet povolených léčivých přípravků: 56 339 (z 18.8.2015)

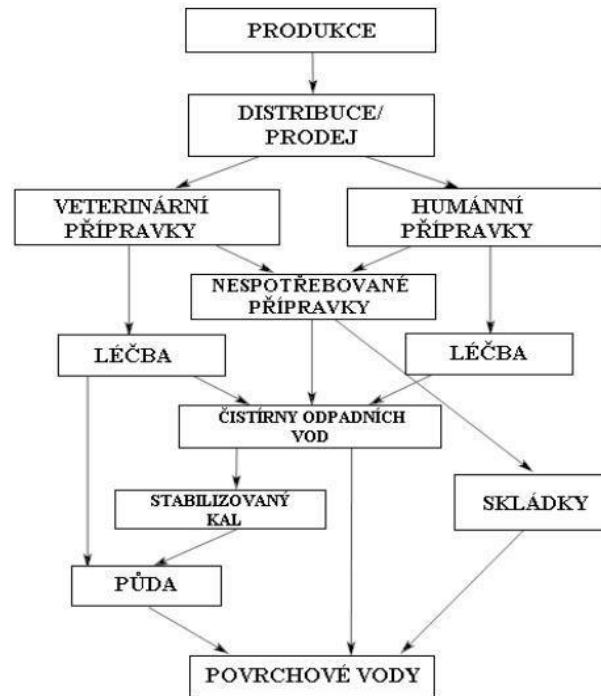
http://www.sukl.cz/modules/medication/search.php?data%5Bsearch_for%5D=&data%5Bcode%5D=&data%5Batc_group%5D=&data%5Bm



Santos L.H.M.L.M et al., Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment, Journal of Hazardous Materials 175, 45-95 (2010).

LÉČIVA A JEJICH VSTUP DO PROSTŘEDÍ

Problematika z hlediska ekotoxicity:
zemědělská půda – např. hnojení, odpady, odpadní vody, povrchová voda



Vstup léčiv a jejich transformačních produktů do prostředí. (převzato z Kotyza *et al.*, 2009)

TESTOVÁNÍ LÉČIV

- Účinná látka nebo přímo přípravek, metabolit
Stanovení, zda existuje nebezpečnost pro vodní prostředí
Provedení testů ekotoxicity pomocí baterie testů
- min. jeden druh řas, bezobratlých (dafnie), obratlovců (ryby) a mikroorganismy + test rozložitelnosti látek a aktivity aktivovaného kalu (čistírny odpadních vod)
- Testování koncentrační řady – výpočet indexů toxicity



Foto: K. Kobetličová



Foto: VŠCHT Praha



https://www.google.cz/search?q=ryby&biw=1301&bih=641&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0CAYQ_AUoAWoVChMI9rLeflm5wVfID8aCh3zJwb_#itb=isch&q=pav%C3%AD+o%C4%BDka&imgref=vIuzSB5vVBRGbm%3A

TESTOVÁNÍ ODPADŮ A ODPADNÍCH VOD

- Kromě léčiv obsahuje i jiné látky či kovy, je třeba výluh z pevného odpadu nebo odpadní vodu posuzovat jako celek
- Provedení testů ekotoxicity pomocí baterie testů
- Předepsaný druh sladkovodních řas, bezobratlých (dafnie), obratlovců (ryby) a semena hořčice

1. Limitní test (neřaděný vzorek)

efekt



2.b Orientační test



3.b Základní test

Stanovení indexů toxicity

nebyl zaznamenán efekt



2.a Ověřovací test



3.a ukončení testování



LÉČIVA X EKOTOXICITA (1)

- Veliký zájem v posledních 20 letech – toxikologie, ekotoxikologie
- Léčiva – humánní a veterinární
- Léčiva x účinné látky

- Záměrná konzumace léčiv lidmi či jinými organismy (hospodářská zvířata, domácí mazlíčci, poraněná volně žijící zvířata ...)
 - metabolismus anebo vylučování do masa, mléka, exkrementů, moči



problém v potravinářství, zemědělství i odpadovém hospodářství

Další problémy - nevyužitá a prošlá léčiva ...často končí v popelnicích a v toaletách ...

LÉČIVA X EKOTOXICITA (2)

- Bioakumulace léčiv a jejich přestup potravním řetězcem
- Vzniklé metabolity mohou být toxičtější než původní léčiva
- Toxicita léčiv ve směsích s jinými látkami?
- Vývoj stále nových léčiv a účinných látek

- Rezistence mikroorganismů i bezobratlých
- Příímý (akutní toxicita) a nepřímý efekt (např. nepříznivý dopad na půdní faunu vlivem snížení mikrobiální aktivity přes nedostatek dostupných živin)
- Důležitá je biodostupnost, farmakokinetika (vstřebání – vyloučení) a farmakodynamika – způsob mechanismu působení léčiv
- Vstup do organismu – přes membrány, difuzí - zanedbatelné, endocytóza, většinou velké molekuly – vazba na receptor, přenos přes membránu za spotřeby energie.

LÉČIVA – ZJIŠTĚNÉ EFEKTY

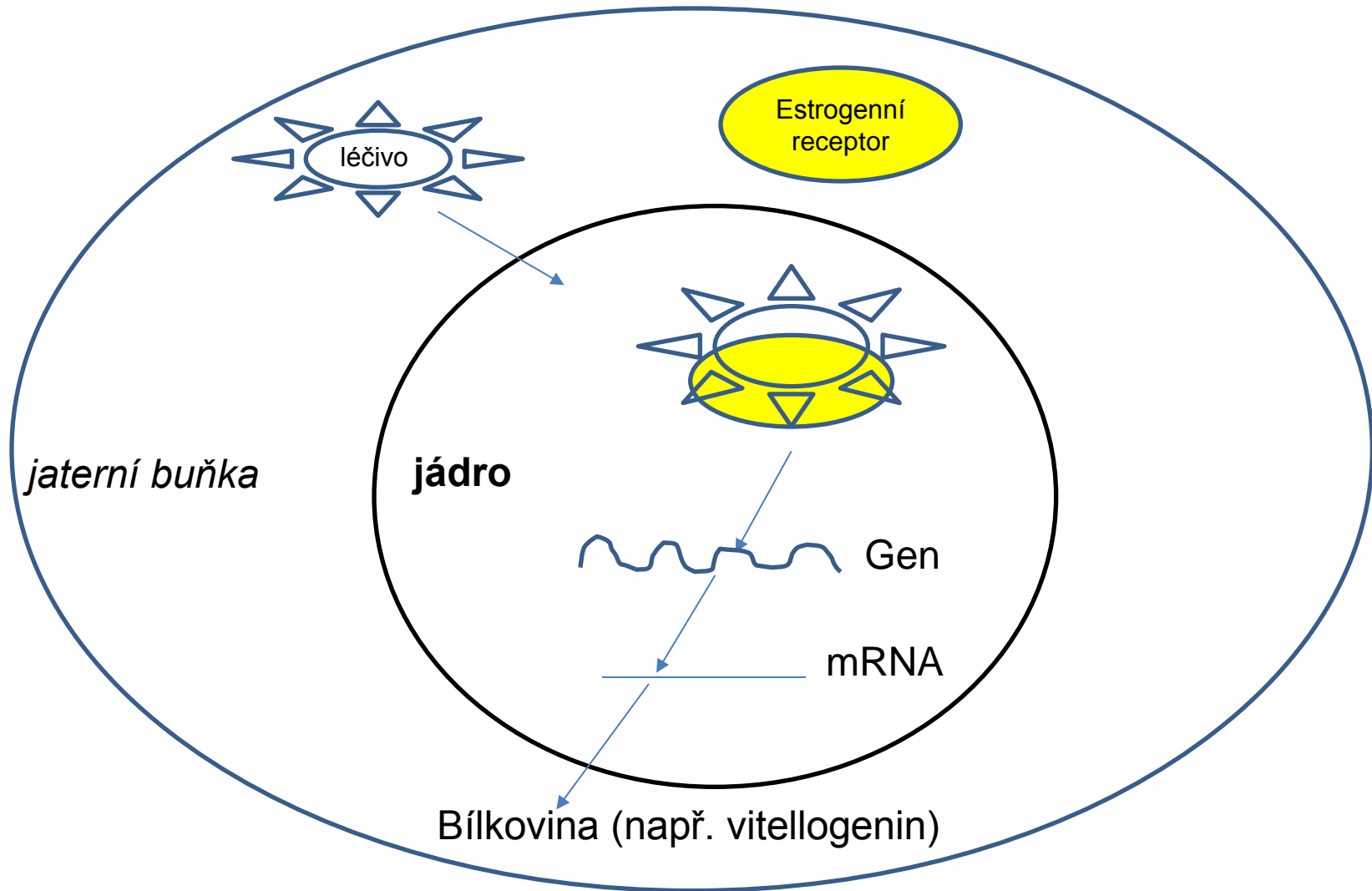
Vodní prostředí

- Humánní antibiotika – odpadní vody
- Veterinární antibiotika – přímo do potravy, injekčně, akvakultury
- Prokázána ekotoxicita pro mikroorganismy, řasy, bezobratlé i ryby (efekty pro různé organismy v rozmezí od 1 µg/l do stovek mg/l)

Terestrické prostředí

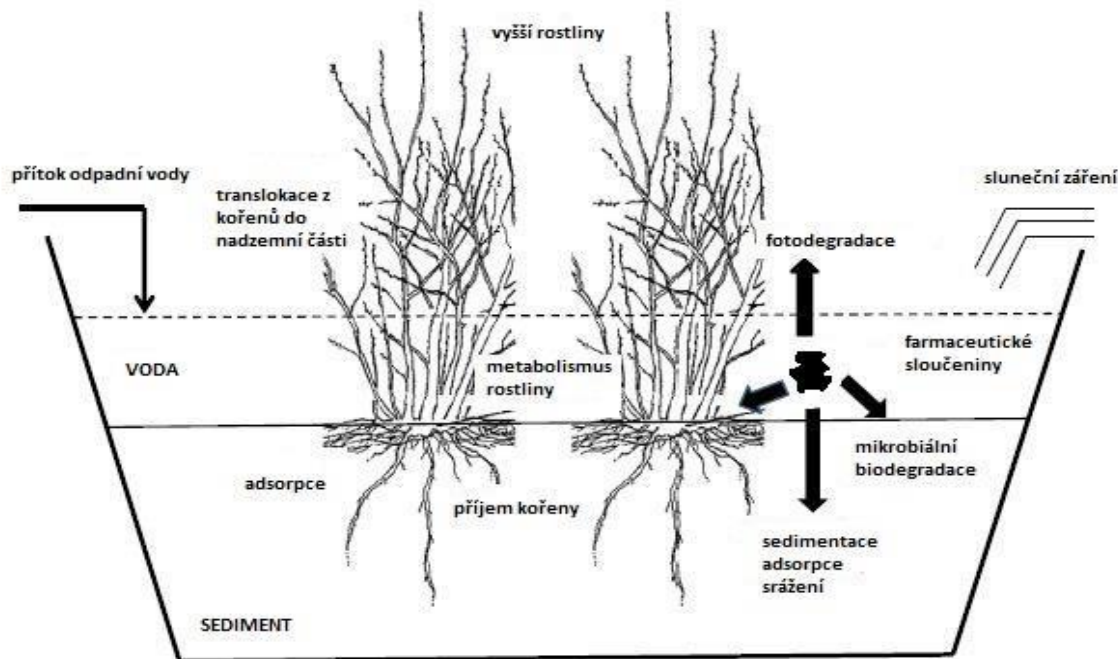
- Efekt na nitrifikační bakterie, rostliny i bezobratlé
- Léčiva při dlouhodobějším působení při expozici nižším dávkám mají vliv na reprodukci a metabolismus, tvorbu chlorofylu, patří mezi endokrinní disruptory, způsobují intersex.

ENDOKRINNÍ DISRUPCE



ODSTRANĚNÍ LÉČIV ZA POUŽITÍ ŽIVÝCH ORGANISMŮ

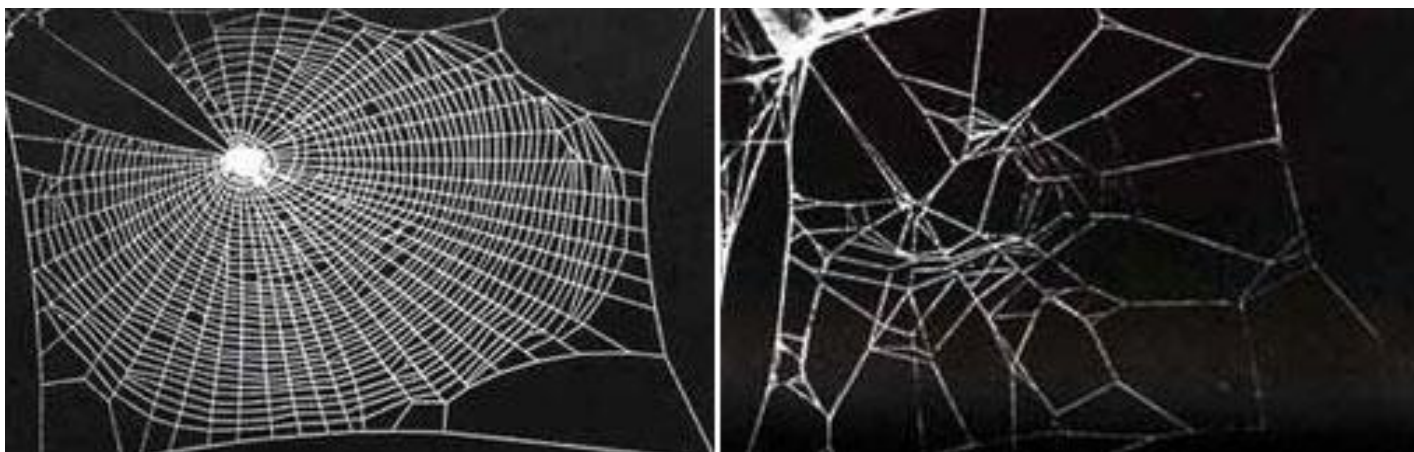
- Mikroorganismy – biodegradace poměrně nízká (nízké koncentrace, záměrné antimikrobiální působení)
- Kořenové čistírny odpadních vod



Mechanismy odstranění léčiv a jejich transformačních produktů v KČOV. (převzato a upraveno dle Carvalho *et al.*, 2014)

VLIV KOFEINU NA PAVOUKY

Níže uvedené fotografie jsou z testů s pavoukem, kterému podávali mouchy napuštěné kofeinem a potom sledovali jeho stavy při vytváření pavučin. Na první fotografii je pavučina za normálního stavu a na fotografii druhé pavučina po užití kofeinu.



<http://www.differentlife.cz/drogy04.htm>

DĚKUJI ZA POZORNOST