



Aquatic effect-based monitoring tools

Luděk Sehnal

Rámcové směrnice pro vody

- WFD – pro vnitrozemské vody/MSFD – pro moře
- Řídící orgány EU – sjednocený přístup k monitoringu
- Dobrý ekologický a chemický stav všech vodních těl



důležitý monitoring aktuálního stavu

V pokynech CIS stojí:

“it is desirable to introduce other techniques for improving the quality of the assessment and to benefit from resource saving developments, as they become available”.

Wernersson et al. , 2014

Základní cíle „effect-based“ metod pro monitoring

- screeningové metody
- systémy včasného varování
- zohledňovat efekty celých směsí
- poskytovat doplňující informace při hodnocení kvality vod



Typy effect-based metod pro monitoring

- **In vitro a In vivo biotesty**
- Biomarkery
- Ekologické indikátory chemického znečištění

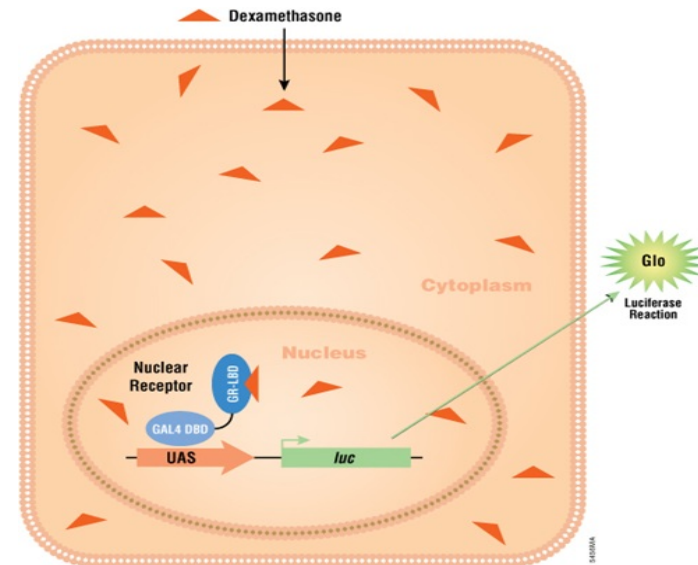
In vitro

Název linie	Mechanismus působení
AR CALUX	Androgenní aktivita (AR)
DR CALUX	Vazba na aryl uhlovodíkový receptor (AH)
ER CALUX	Estrogení aktivita (ER)
GR CALUX	Glucokortikoidní aktivita (GR)
TRb CALUX	Tyroidní aktivita (TR)
YES	Estrogení aktivita (ER)
Ames	Genotoxicita/mutagenita
ABC	Antibiotická aktivita

- transfekované buněčné linie s reportérovým genem
- efekty celých směsí oproti pozitivní kontrole
 - ↳ výjádřeny v chemických ekvivalentech
- levná metoda pro screening velkého počtu látek



vhodná pro screeningové účely
monitorovacích programů



In vivo

- vždy na živých organismech, v laboratorních podmínkách
- odpověď celého organismu
 - ↳ hodnoceny vysoce relevantní endpointy
(mortalita, růst, mobilita,...)
- nutné testovat na více trofických úrovních



Typy effect-based metod pro monitoring

- In vitro a In vivo biotesty
- **Biomarkery**
- Ekologické indikátory chemického znečištění

Biomarkery



- pouze na živých jedincích v terénu
- dělí se na biomarkery:
 - specifické** **X** **obecné** nebo **expozice** **X** **efektu**
- Sledují fyziologické, biochemické, histologické či morfologické změny (např: produkce spec. enzymu)
- vhodný a efektivní přístup pro monitoring

Některé biomarkery již zavedeny při monitoringu a hodnocení rizik

Biomarker	Popis	Odpověď na typy látek
EROD	Biotransformační enzym indukovaný planárními uhlovodíky	PCBs, PAHs a látky dioxinového typu
AChE Acetylcholinesteráza	Enzym, který se účastní přenosu nervového vzruchu	Organofosfáty, karbamáty a podobné molekuly
VTG Vitellogenin	Prekurzor vaječného žloutku, normálně syntetizován u samic ryb	Estrogenní endokrinně disruptivní látky
MT Metallotionein	Vazba kovů zapojená v ochraně proti oxidativnímu stresu	Těžké kovy a induktory oxidativního stresu
DNA dukty	Změny DNA struktury, které mohou narušit funkci DNA	Genotoxické látky typů PAHs a jiné organické polutanty
Imposex	Změna mužský pohlavních znaků na ženské	TBT
Mikrojadérka	Poškození genetického materiálu organismu	Látky způsobující permanentní a dědičné DNA zlomy

Typy effect-based metod pro monitoring

- In vitro a In vivo biotesty
- Biomarkery
- **Ekologické indikátory chemického znečištění**

SPEAR (SPEcies At Risk)

PICT (polution-induced community tolerance)

- biologické indexy (modely)
- hodnotí dopady na úrovni populace či společenstva
- sledují změny ve funkčnosti společenstev, které mohou být způsobeny polutanty

Další metody...

EDA (Effect-directed analysis)

- analyzuje pouze aktivní frakci z tisíce látek ve vzorku
- extrakce, vyčištění, frakcionace, biotest a chemická analýza zahrnující zjištění struktury a její potvrzení
- výstupem konkrétní látky

OMICS

- předpokládáné technologie budoucnosti pro monitoring
- využití genomiky, proteomiky, metagenomiky a metabolomiky při studiu efektů látek
- Mohou přinést info o:

molekulárních biomarkrech, mechanismech působení, odhad původní lokality organismu

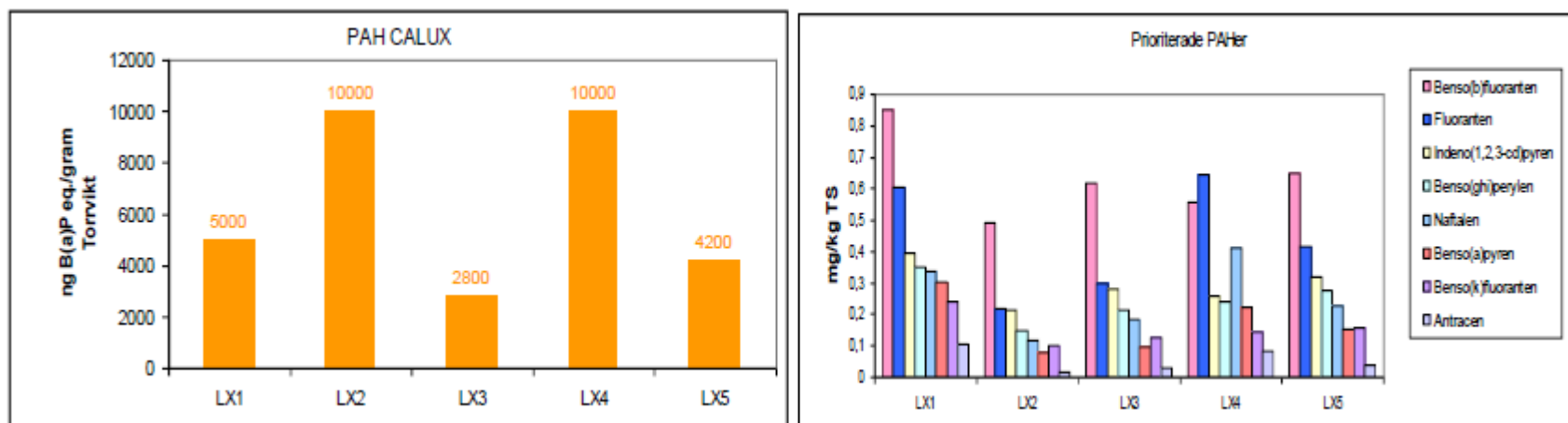
Případové studie

Laxsjön – průzkum kontaminace sedimentu s využitím in vitro biotestů a chemických analýz

Švédské jezero Laxsjön

Studium kontaminace sedimentů

Porovnání in vitro biotestů s chemickými analýzami



In vitro biotesty ukazují kumulativní efekty všech přítomných látek



Je třeba využívat obou metod

Vývoj multibiomarkerového přístupu k identifikaci původu abnormalit u ryb ve Francouzské řece přijímající městské a průmyslové odpadní vody

- zjištěny otoky břicha u ryb a jiné abnormality
- cíl studie – analyzovat původce abnormalit
- **VTG**, **EROD**, CYP3A, GST, **AChE**
- studie doplněna o EDA – zjištění konkrétních látek



Využití multibiomarkerového přístupu

Děkuji vám za pozornost

