

615.9 - 074:543.061:355.1(437.1/2)

BIOLOGICKÁ INDIKACE TOXICKÝCH LÁTEK A JEJÍ VYUŽITÍ V ARMÁDĚ ČESKÉ REPUBLIKY

Ing. Lubomíra RUMLOVÁ
Výzkumné a zkušební středisko 160, Hostivice
(náčelník: plk. RNDr. PhMr. Eduard Urminský, CSc.)

Úvod

Metody chemické detekce toxických látek a konkrétně diverzních jedů jsou problémem vojenských chemiků a zdravotníků ve všech armádách. Není totiž pochyb o tom, že militantní skupiny fanatiků, extremistů a náboženských fundamentalistů by neměly morální zábrany při jejich použití. Metodická připravenost polních laboratoří na detekci těchto látek je však nedostatečná. Nelze předem odhadnout všechny hlavní chemické funkční skupiny toxikantů, které může diverzant použít, počet konkrétních toxikantů je prakticky neomezený. Nejde jen o jednoduše analyzovatelné látky anorganické. Sestavit spolehlivý soubor analytických chemických metod k detekci neznámých organických diverzních jedů prostě není možné ani s použitím progresivních metod. Má-li mít ochrana vojsk a obyvatelstva před diverzní akcí smysl, musí být výsledek testů jednoznačně alternativní: jedovaté - nezávadné.

Tento problém může vyřešit pouze **biologický nespecifický test** jako doplněk chemických specifických metod. Proto lze zařazování biotestů vedle chemických rozborů vysledovat jako trend v mnoha zahraničních armádních střediscích. V tomto výzkumu jsou zřejmě nejdále armády USA a Izraele.

Bioindikace jedů je metoda expozice určitých biologických objektů v prostředí obsahujícím toxikant. Biologickou reakcí těchto objektů je indikována toxicita daného prostředí. Podstatným rysem bioindikace je její nespecifičnost vyvolaná obecnou reakcí bioindikátoru na široké spektrum různých toxických funkčních skupin.

Biologický objekt je konkrétní reagující indikátor. Může to být například rostlinný objekt (semeno, rostlina okřehku, mikrobiální populace atd.) nebo živočišný objekt (dafnie, octové mušky atd.). Používány jsou však i nestrukturální biologické objekty, které citlivě reagují na toxikanty (nativní enzymy, tkáňové kultury atd.). Proto je volen obecný název biologický objekt.

Biologická reakce na toxické látky (test toxicity)

Při testu toxicity je biologický objekt za definovaných podmínek uveden do kontaktu se zkoumaným vzorkem. Biologická reakce (fyziologická, růstová, kinetická, eventuálně exitus letalis) svědčí o výsledku testu. Reakce na toxické látky je buď alternativní (úhyn, zastavení růstu), nebo kvantitativní či semikvantitativní (např. snížení rychlosti růstu kořenů).

Volba biologických objektů

Nejčastěji zkoumané objekty jsou uvedeny v tab. 1. Přestože základní výzkum uvedených nejčastěji používaných biotestů je v počátcích, ukazuje se již cesta využití bioindikátorů druhé generace.

Tabulka 1

Biologické objekty nejčastěji používané pro bioindikaci

Biologický objekt	Poznámka
Cladocera (hrotnatky)	nejrozšířenější použití, laboratorní chov možný celoročně
Tetrahymena pyriformis (nálevník)	jednoduchý laboratorní chov, pro práci v terénu příliš malí jedinci
Chlorella (jednobuněčná zelená řasa) Sinice (Anabaena, Nostoc, Cladophora)	citlivé indikátory, laboratorní pěstování je však obtížné a v polních podmínkách těžko realizovatelné
Klíčící rostliny jedno- děložné - rychlost růstu	velmi citlivá a spolehlivá metoda bioindikace
Klíčící rostliny dvouděložné	obvykle méně citlivé než rostliny jednoděložné
Okřehek (Lemna sp.)	jeden z nejstarších testovacích organismů, spolehlivý, laboratorní pěstování možné celoročně
Mikrobiologické metody	metody podobné difuznímu testu při stanovení antibiotik
Kvasinky Saccharomyces cerevisiae	v suspenzi kvasinek v log. fázi je citlivost na toxiny citlivě vyjádřena respiračním testem

V první řadě to jsou nativní enzymové preparáty. V případě bioindikace je u nich využívána nikoli jejich specifická reakce k substrátu, ale inaktivace či inhibice různými jedy. Intenzivně se též pracuje na využití respirační aktivity izolovaných mitochondrií (obvykle z krysích jater). Progresivní metodou bioindikace bude zřejmě i použití tkáňových kultur živočišných i rostlinných.

Rychlost provedení bioindikace

Z hlediska délky trvání můžeme metody bioindikace dělit na testy:

a) Krátkodobé, jejichž provedení trvá nejvýše několik hodin. Sem můžeme zařadit testy s kvasinkami, nativními enzymovými preparáty, ale i s dafniemi, okřehkem

apod. (při koncentracích toxikantů přicházejících v úvahu při diverzním použití).

- b) Střednědobé, jejichž provedení trvá 2-3 dny. Nejdůležitější z nich jsou testy rychlosti růstu klíčících rostlin.
- c) Dlouhodobé, trvající i 10-14 dní. Tyto testy se používají zejména v hydrobiologii při sledování znečištění vodních ploch a toků. Pro armádní použití mají význam zejména při sledování znečištění vojenských výcvikových prostorů únikem škodlivých látek do půdy.

Problém citlivosti bioindikátorů

Aby mohl být jakýkoli biologický objekt použit pro testování, musí respektovat Haberův zákon $T_E = t \cdot c$ (toxický efekt je dán součinem času a koncentrace toxikantu). To bez výjimek platí u všech biologických objektů. Tento zákon však funguje u různých objektů v různé rovině reakcí určujících "efektivitu" toxikantů.

U živočichů používáme k vyjádření toxicity určité látky pro daný biologický objekt většinou hodnoty LD_{50} či ED_{50} . Pro rostliny nelze tyto ukazatele k vyjádření jejich reakce na toxikanty použít. U rostlin se totiž nezjišťuje procentický počet jedinců, u nichž došlo k ovlivnění toxikantem, ale zjišťuje se snížení určitého dohodnutého ukazatele (např. průměrné délky kořenů souboru klíčících rostlin) ve srovnání s průměrnou hodnotou téhož ukazatele u souboru kontrolního. Totéž platí i pro enzymové reakce.

Základem hodnocení vhodnosti biologického testu musí být:

- a) mez dokazatelnosti toxikantu
- b) rozpětí reakce od prahu toxicity k určitému popsanému maximálnímu efektu
- c) porovnání těchto hodnot s toxicitou pro člověka s přihlédnutím k dávce toxické a k jednorázové dávce letální. Tuto dávku uvažujeme proto, že předpokládáme diverzní záměr likvidovat např. vojáka po jednom napití z vodního zdroje (nejpravděpodobnější použití diverzního jedu je právě v pitné vodě).

Při porovnání toxicity určité látky pro člověka a bioindikátor může dojít k několika eventualitám. Ideální biologický objekt bude mít mez dokazatelnosti toxikantu blízko prahu toxicity pro člověka a maximální efekt se projeví při koncentraci ležící nad koncentrací pro člověka toxickou, ale pod koncentrací představující pro člověka smrtelnou dávku toxikantu. Biologický objekt, jehož mez dokazatelnosti toxikantu leží nad koncentrací toxickou pro člověka, je nepoužitelný, neboť jeho citlivost není dostatečná. Na druhé straně je nevyhovující i příliš citlivý biologický objekt, u něhož se maximální toxický efekt projeví při koncentraci nižší, než je práh toxicity pro člověka.

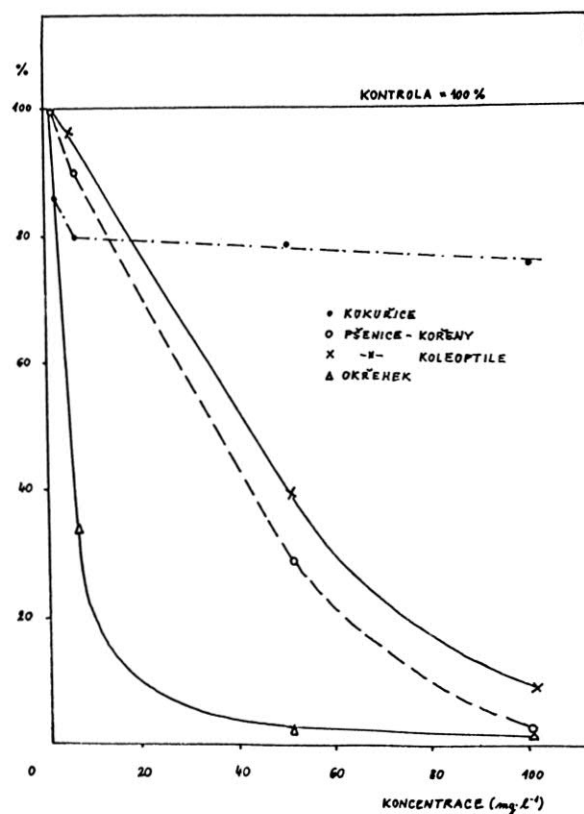
Tabulka 2

Porovnání mezí dokazatelnosti některých toxikantů analyticky a bioindikací

Toxikant	mez dokazatelnosti ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	
	analyticky	biotestem
solí olova	10^{-2}	10^{-1} až 10^{-3}
kyanidy	10^{-1}	10^{-1}
arzen	10^{-3}	10^{-2}
alkaloidy	10^{-2}	10^{-2}
fytotoxické látky	10^{-2}	10^{-2} až 10^{-3}

V tabulce 2 je uvedeno základní porovnání mezí dokazatelnosti některých skupin jedů běžnými analytickými metodami a bioindikátory.

Pro ukázkou uvádíme na obr. 1 citlivost některých rostlinných biologických objektů na trichotecin při stoupající koncentraci (údaje převzaté z literatury).



Obr. 1 Závislost délky klíčenců některých rostlin na koncentraci trichotecinu

Výzkum bioindikace ve VZS 160

VZS 160 Hostivice se zabývá výzkumem zaměřeným na volbu optimální varianty použití bioindikátorů a metod bioindikace. Při tomto výběru je nutné respektovat požadavky armády, které je možno shrnout do následujících bodů:

- dostatečná citlivost indikace
- vyhovující reprodukovatelnost výsledků
- citlivost bioindikátoru nejen na běžné jedy, ale i na toxické intermediáty a štěpné produkty, které cílené chemické analýzy nezaznamenávají
- vyhovující rychlost provedení testu
- jednoduchost provedení vhodná i pro polní podmínky.

Některé z těchto požadavků je možné již dnes splnit. Z dosud provedených prací však vyplývá ještě řada problémů a nejasností:

- 1) Lze předpokládat, že u některých bioindikátorů a určitých jedů může docházet k nesouladu mezi toxicitou pro člověka a pro bioindikátor.
- 2) Zřejmě se nepodaří nalézt jeden univerzální bioindi-

kátor, ale bude nutné sestavit soubor vzájemně se doplňujících biologických objektů.

- 3) Cílem bioindikace by měl být, stejně jako u západních armád, tzv. "pocket test system", který bude zřejmě vázán na zařazení druhé generace bioindikátorů. Domníváme se, že tento cíl bude v budoucnu dosažen.

Souhrn

Bioindikace jako integrální nespecifická metoda detekce toxických látek může být vhodným doplňkem analytických specifických metod. Předložená práce přináší přehled a výklad nejdůležitějších pojmů z této oblasti. Dále se zabývá problémem volby biologických objektů, rychlosti provedení testů a citlivosti bioindikátorů, včetně vzájemného poměru toxicity určité látky pro biologický objekt a člověka.

Literatura

1. BECKING, C.: Report of the Biological Screening Tests. EPA-600 USEPA, Las Vegas, Nevada, 1979.

2. BROWN, W. K.: Acute Toxicity in Theory and Practice. John Wiley and Sons, Chichester 1989.
3. CAIRNS, J. et al.: Biological Monitoring of Water Quality. American Society for Testing and Materials, PA, 1987.
4. GOODRICH, M. S.: A Behavioral Screening Assay for *Daphnia magna*. Environ. Toxicol. Chem., 9, 1990, s. 21-30.
5. GRUBER, D. - DIAMOND, J.: Automated Biomonitoring. New York, 1985.
6. CHARPENTIER, S. et al.: Toxicity and Bioaccumulation of Cd in Experimental Cultures of *Lemna minor* L. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 38, 1987, s. 1055-1061.
7. STEINBERG, G.: Use of *Lemna* as Test Organism. Chronica Botanica VII, 8, 1943, 270.
8. SOMASUNDARAM, L.: Application of the Microtox System to Assess the Toxicity of Pesticides and Their Hydrolysis Metabolites. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 44, 1990, s. 254-259.

Další literární prameny jsou k dispozici u autorky.

Klíčová slova: Bioindikace; Bioindikátor; Nespecifický test toxicity; Diverzní jedy.

Do redakce došlo 3. 5. 1993