

Ing. Věra Očenášková
Ing. Eva Bohadlová

Monitoring vybraných biomarkerů v odpadní vodě a jejich stanovení

aneb

Od včelí larvy k infekčnímu biomarkeru...

Co vám chceme sdělit

- **Jakými biomarkery se budeme zabývat**
- **Co bylo důvodem jejich výběru**
- **Historie pterinové chemie**
- **Analytické stanovení biomarkeru neopterinu v odpadní vodě.(Ing. Eva Bohadlová)**
- **Výsledky měření**

Výběr biomarkeru a zdůvodnění tohoto výběru



- **Přelom 2019 a 2020 - první zprávy o výskytu nemoci COVID-19**
- **Leden 2020 WHO vyhláší propuknutí stavu globální nouze**
- **Březen 2020 vyhlášení pandemie nemoci COVID-19**
- **Duben 2020 - VÚV – pilotní monitoring výskytu SARS-CoV-2 v OV**
- **2021 – 2022 řešení projektu COVMON**
 - **Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace, reg. č. VI04000017**

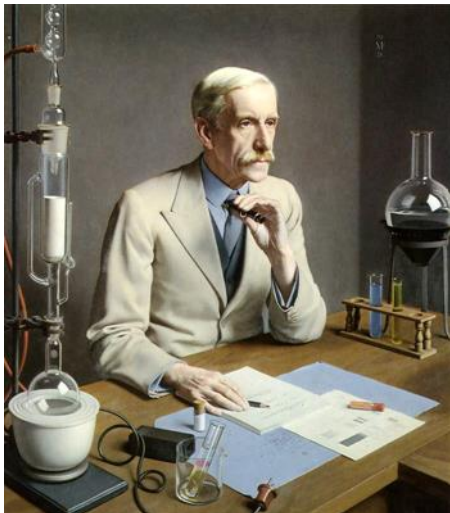
Výběr biomarkeru a zdůvodnění tohoto výběru

- **Vedle sledování částic viru SARS-Cov-2 metodou PCR hledání vhodného biomarkeru stanovitelného chemickými analytickými metodami**
- **Neopterin – nespecifický biomarker zánětlivých onemocnění**
 - **Možnost stanovení metodami LC-MS/MS**

Historie pterinové chemie

Sir Frederik Gowland Hopkins – první se začal zabývat systematicky zabývat pteridiny

- 1889 – pokusil se izolovat barevné pigmenty z motýlích křídel. Neobvyklé fyzikální a chemické vlastnosti mu neumožnily izolovat čistou substanci.
- 1891 – zjištění, že se jedná o dva pigmenty.



› *Frederick Gowland Hopkins (1861 – 1947), biochemik. Studoval v Guy's Hospital, kde získal zlatou medaili Londýnské univerzity. V roce 1897 se stal prvním přednášejícím chemické biologie v Cambridgi. Objevil to, co nazýval "doplňkové potravinové faktory", které se později staly známými jako vitamíny. V roce 1925 byl pasován na rytíře a v roce 1929 získal Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu.*

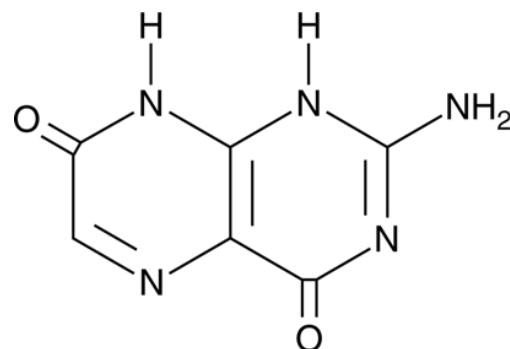
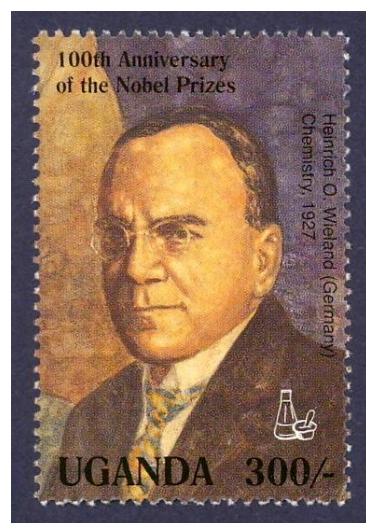
› Zdroj: www.artrenewal.org a <https://www.londonremembers.com/subjects/sir-frederick-hopkins>

Historie pterinové chemie

- Clements Schöpf a Heinrich Otto Wieland navázali na předchozí výzkumy a
- 1924 izolován xantopterin
- 1926 izolován leukopterin
- 1933 izolován isoxantopterin



Struktura stále nebyla objasněna

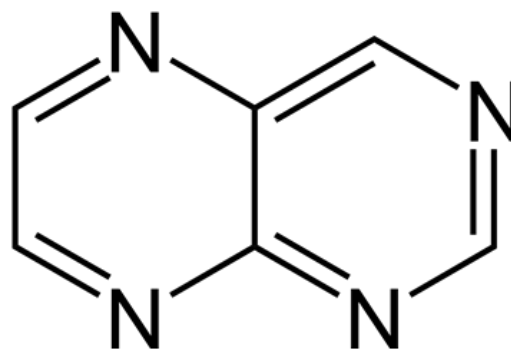


Historie pterinové chemie

Robert Purrmann na začátku 40. let objasnil strukturu všech tří pigmentů

Základ – spojení pyrimidinového a pyrazinového kruhu

Pojmenování – pteridin (*pteron* (ř.) – křídlo)

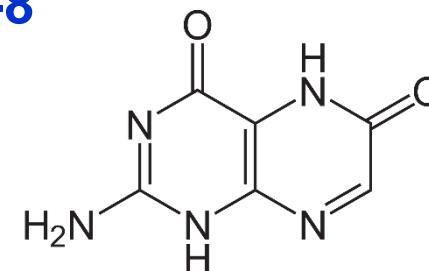


Pteriny

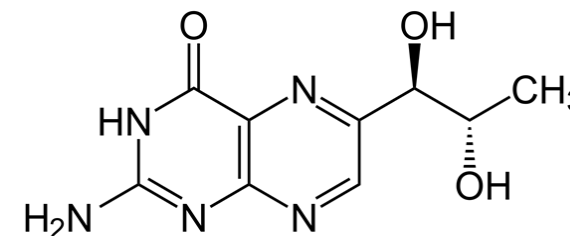
- **Cyklické organické sloučeniny**
- **Vysoké koncentrace pouze jako pigment u hmyzu, obojživelníků, plazů a ryb**
- **V živých organizmech včetně člověka se podílejí na biologických oxidacích**
- **U člověka poprvé nalezeny v moči (relativně vysoká koncentrace a snadno dostupná matrice)**

Pteriny sledované u člověka

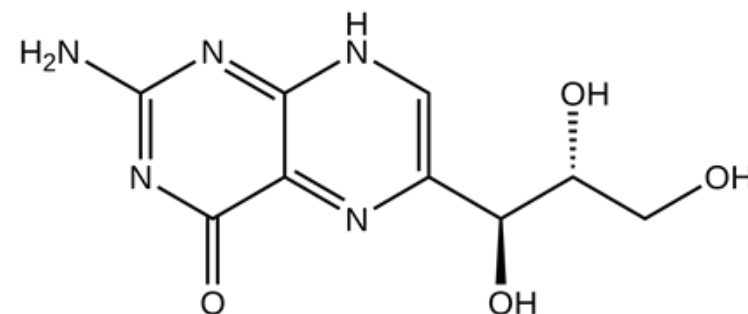
- **Xantopterin** CAS Registry Number® 119-44-8



- **Biopterin** CAS Registry Number® 22150-76-1

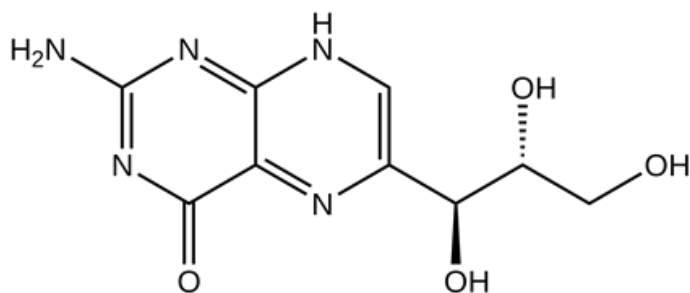


- **Neopterin** CAS Registry Number® 2009-64-5



Neopterin CAS Num. 2009-64-5

- 1963 – H. Rembolt a L. Buschmann izolovali z larev včel, včelích dělnic a včelí mateří kašičky 2-Amino-6-(1,2,3-trihydroxypropyl)pteridin-4(1H)-one jako novou molekulu s pterinovou strukturou izolovanou z včely medonosné
- název **novapterin**
- Konečné pojmenování **neopterin** jak start nové epochy pteridinové chemie



VITATOX 2023



Neopterin CAS Num. 2009-64-5 U člověka

- 1967 – izolace neopterinu z moči
- Zjištění, že se neopterin vyskytuje u pacientů s maligními onemocněními a také u pacientů s virovými chorobami (u zdravých osob se nevyskytuje)
- 1981 – hypotéza, že neopterin pochází z imunitní odpovědi hostitele namířené proti nádorovým buňkám nebo virově transformovaným buňkám
- Výzkumy vedly k poznání, že produkce neopterinu je úzce spojena s aktivací celulárního imunitního systému
- Lze ho měřit v dalších tělních tekutinách – sérum, mozkomíšní mok

Neopterin CAS Num. 2009-64-5 U člověka



Zvýšená koncentrace neopterinu zjištěna u pacientů s

- Virovou či bakteriální infekcí (HIV, tuberkulóza)
- Parazitární infekcí
- Autoimunitní onemocnění (revmatoidní artritida)
- Nádorová onemocnění
- Neurozánětlivá onemocnění

Dobrá korelace s rozsahem a aktivitou nemocí

Sledování hladiny neopterinu slouží k

- Monitorování průběhu léčby
- Včasné odhalení reakce štěpu proti hostiteli při transplantacích

Výskyt neopterinu potvrzen u osob s nemocí Covid-19

Neopterin a COVID-19

- Medián inkubační doby pro Covid-19 je 4 – 6 dní, někdy až 14 dní
- Neopterin se v moči objevuje již 3 den po infikování pacienta, tedy dříve, než se projeví příznaky choroby
- Vzhledem k výskytu v moči lze aplikovat epidemiologický přístup k odpadním vodám a stanovovat tuto sloučeninu v komunálních odpadních vodách

Ing. Bohadlová

Analytické stanovení biomarkeru neopterinu
v odpadní vodě.

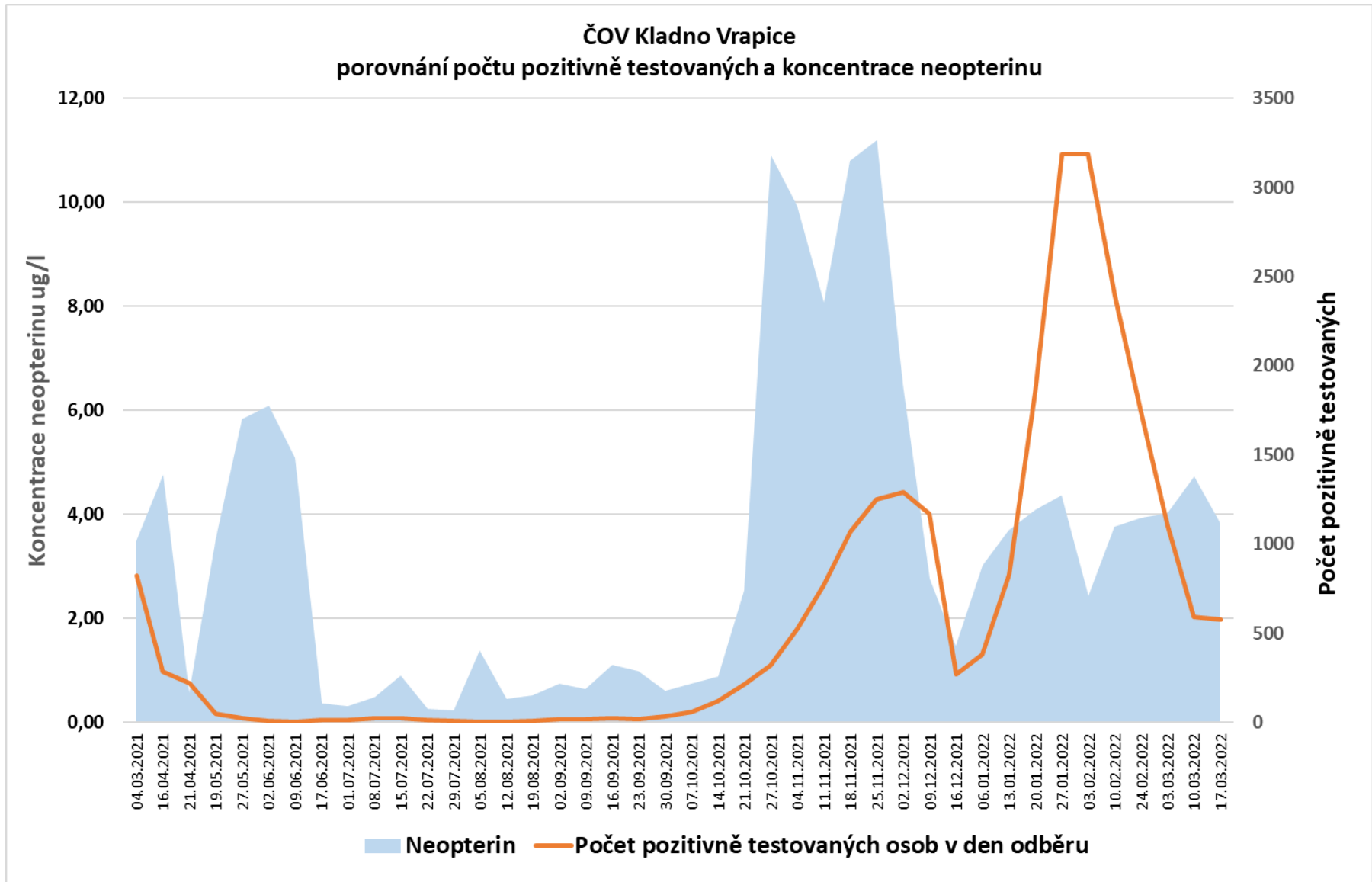
Výsledky měření koncentrací neopterinu v odpadních vodách

Celkem bylo zpracováno 116 vzorků z 9 lokalit, vybrány byly lokality s vyšší četností odběrů po delší dobu

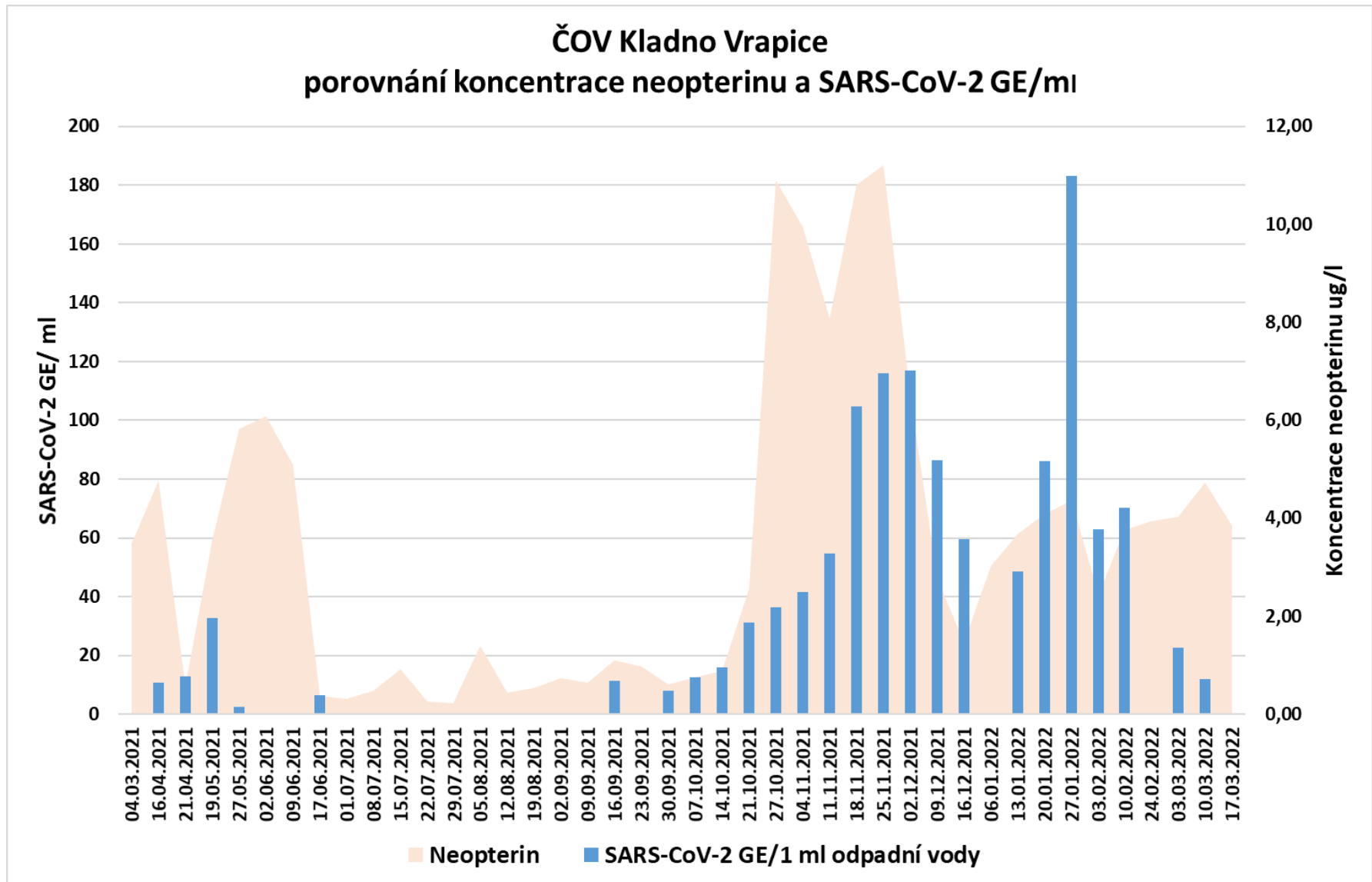
- **Monitorované lokality (aglomerace a ČOV s rozdílným počtem obsluhovaných obyvatel)**
 - **Kladno (vzorky odebírány nejdelší dobu s nejvyšší frekvencí odběrů)**
 - **Brno**
 - **Praha**

Bylo provedeno porovnání s počtem infikovaných osob v den odběru a množstvím SARS-Cov-2 GE/1 ml (metoda RT-qPCR)

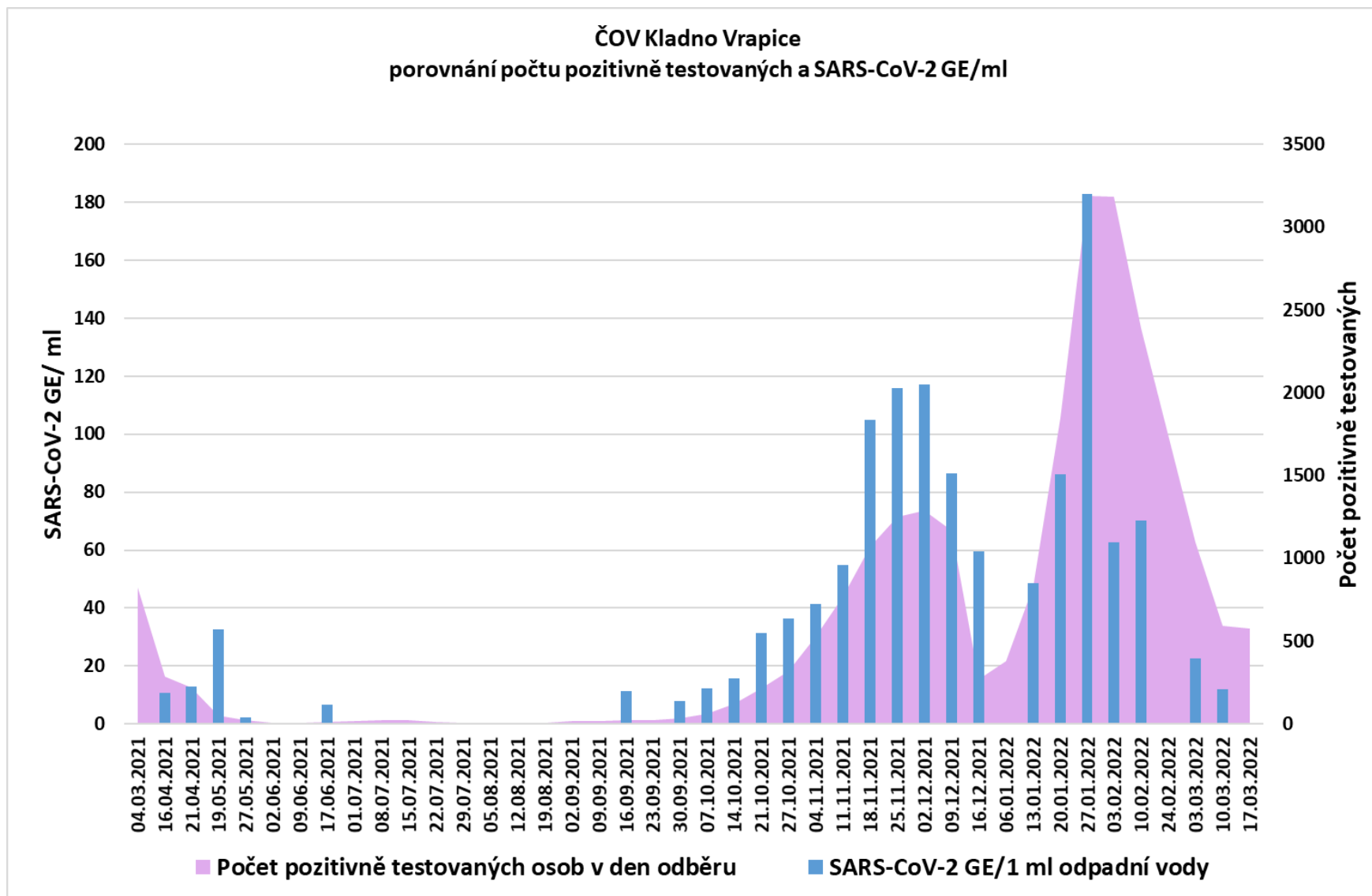
ČOV Kladno Vrapice



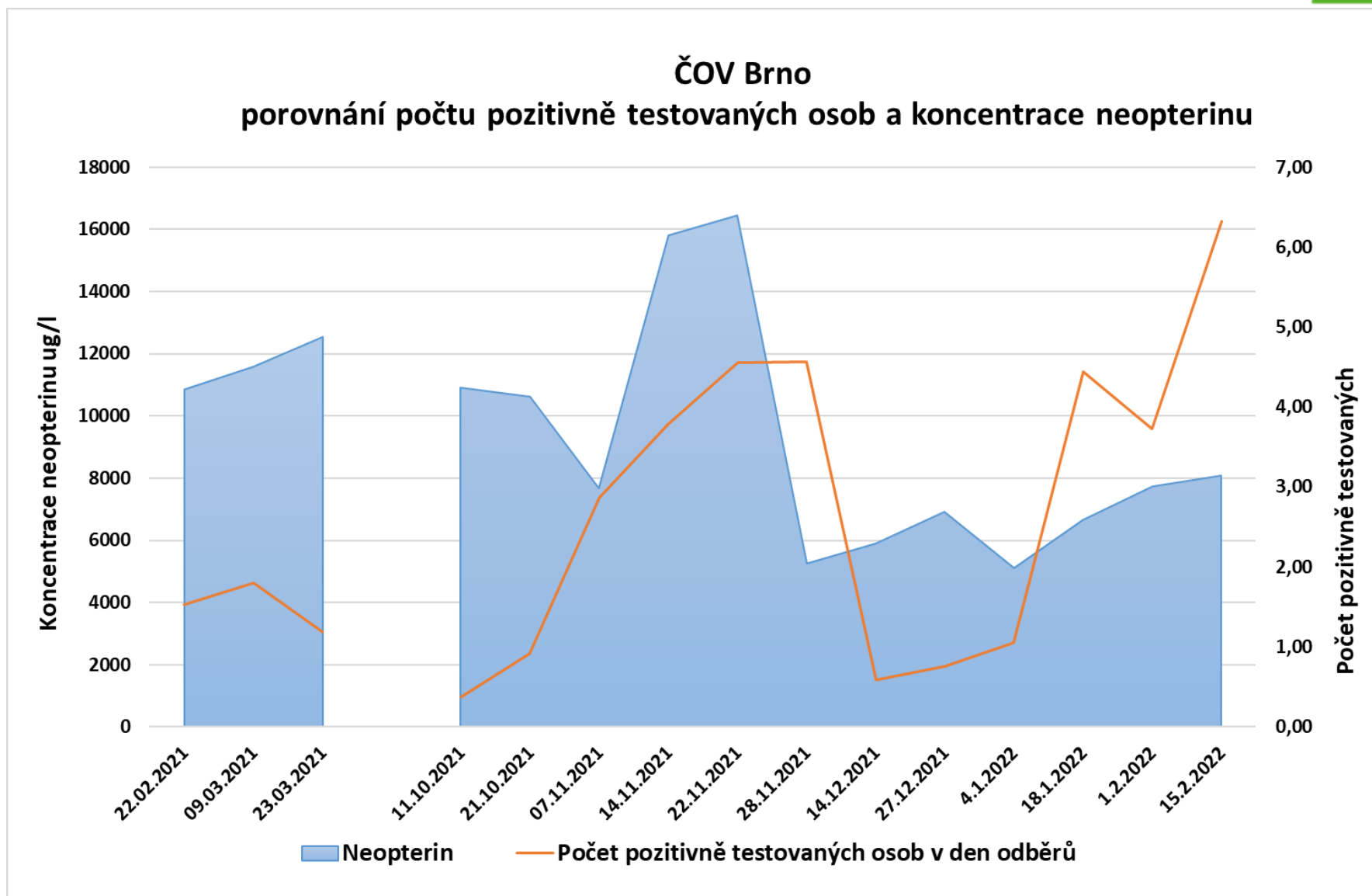
ČOV Kladno Vrapice



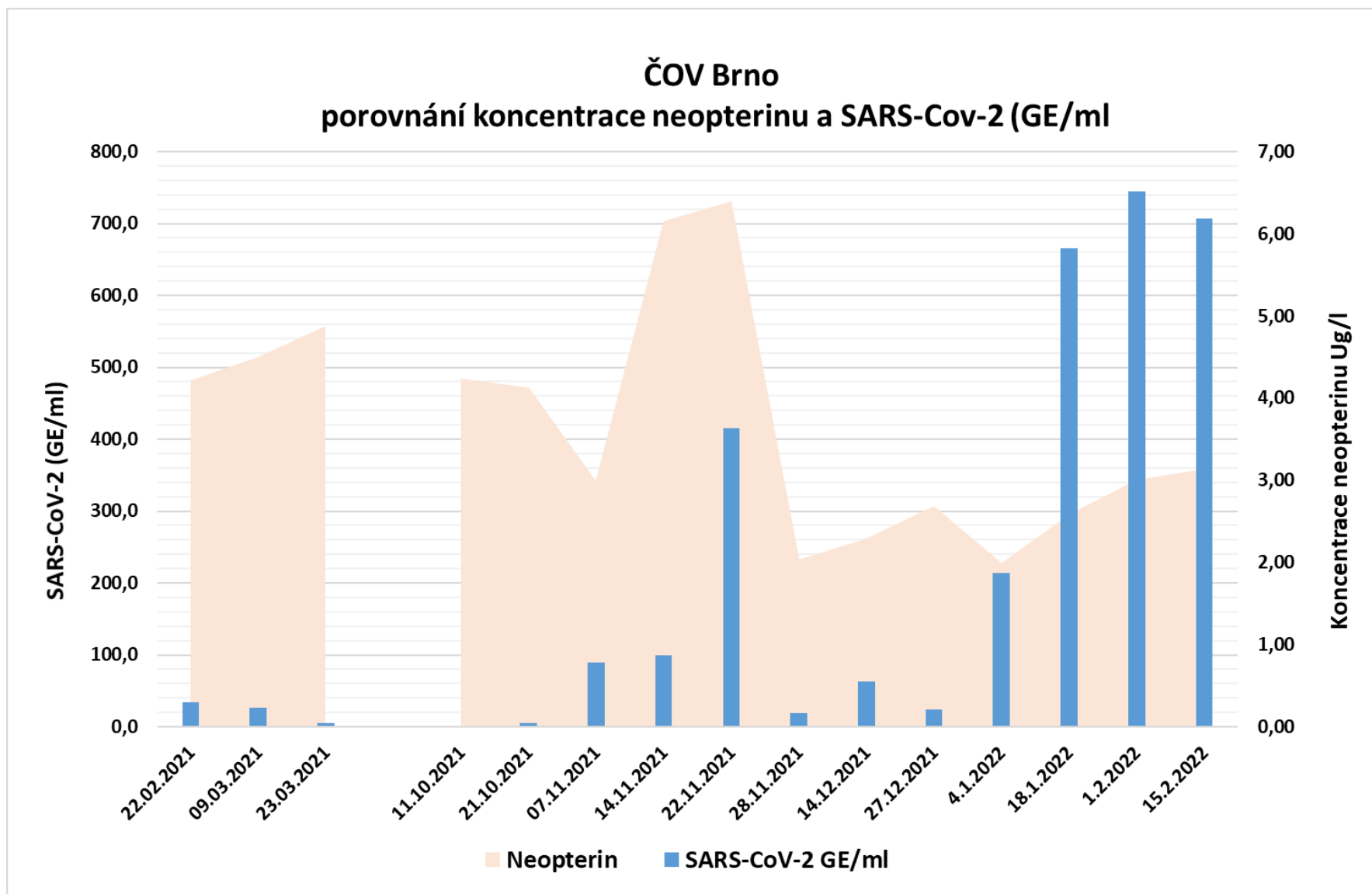
ČOV Kladno Vrapice



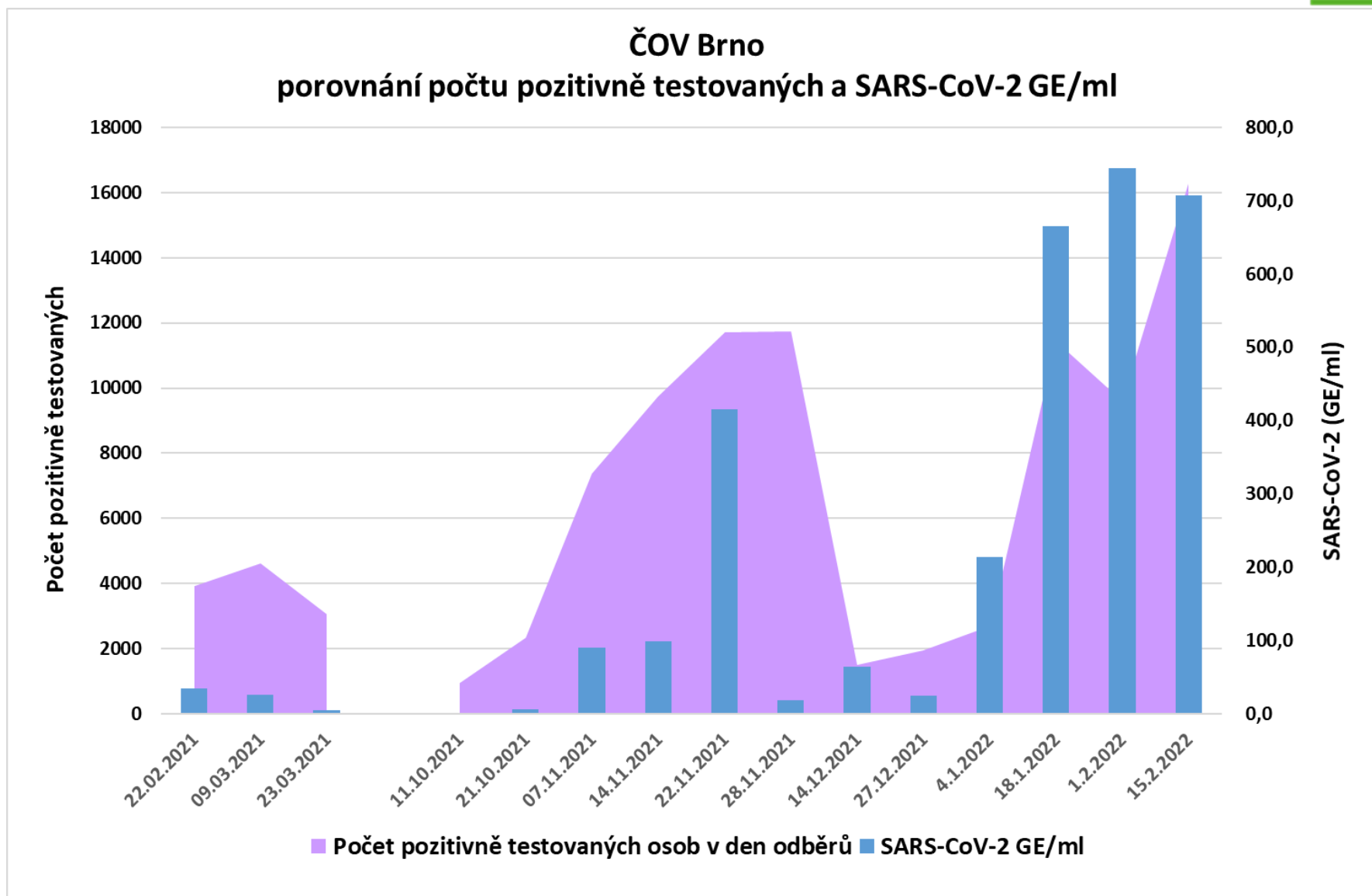
ČOV Brno



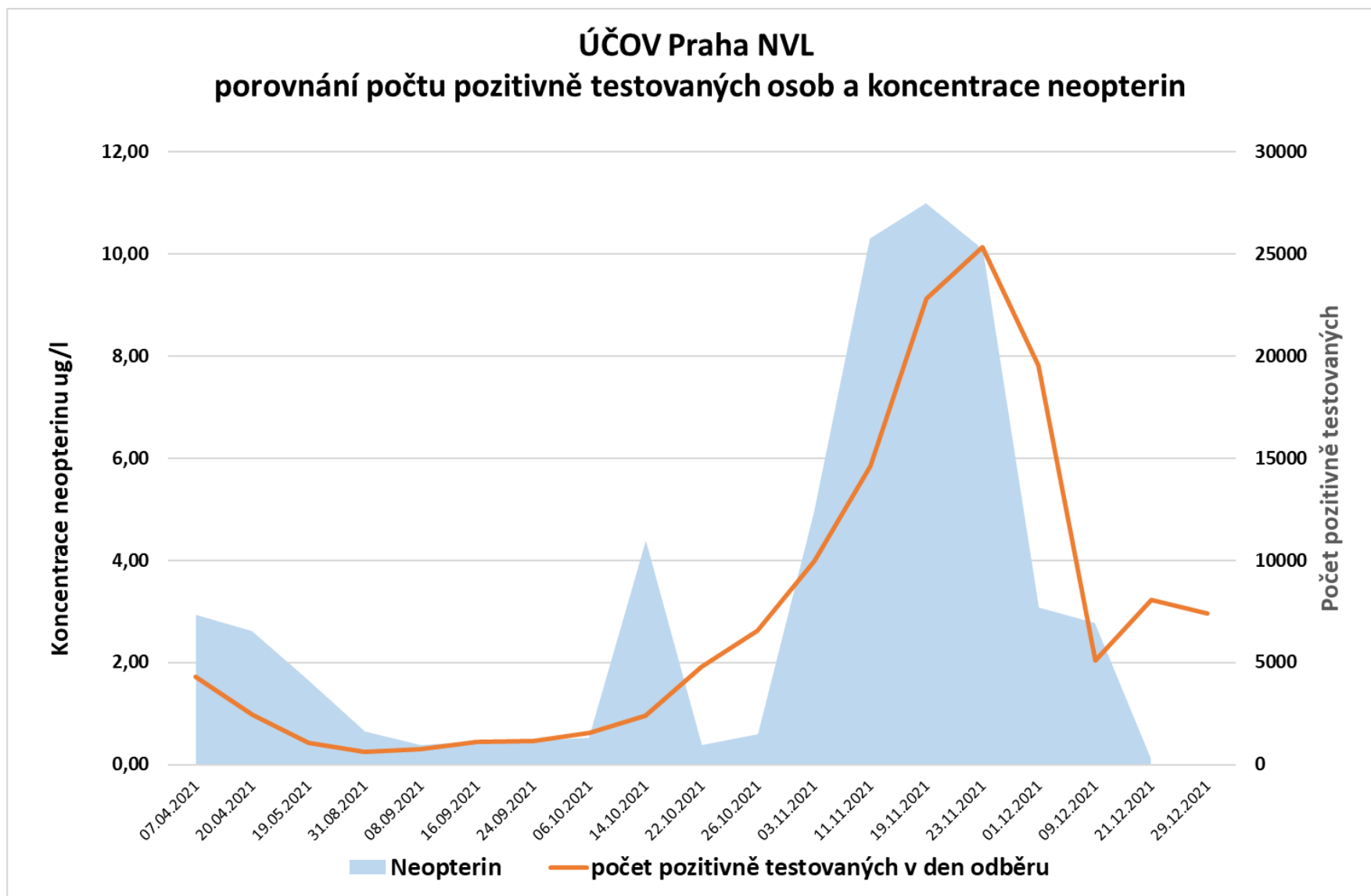
ČOV Brno



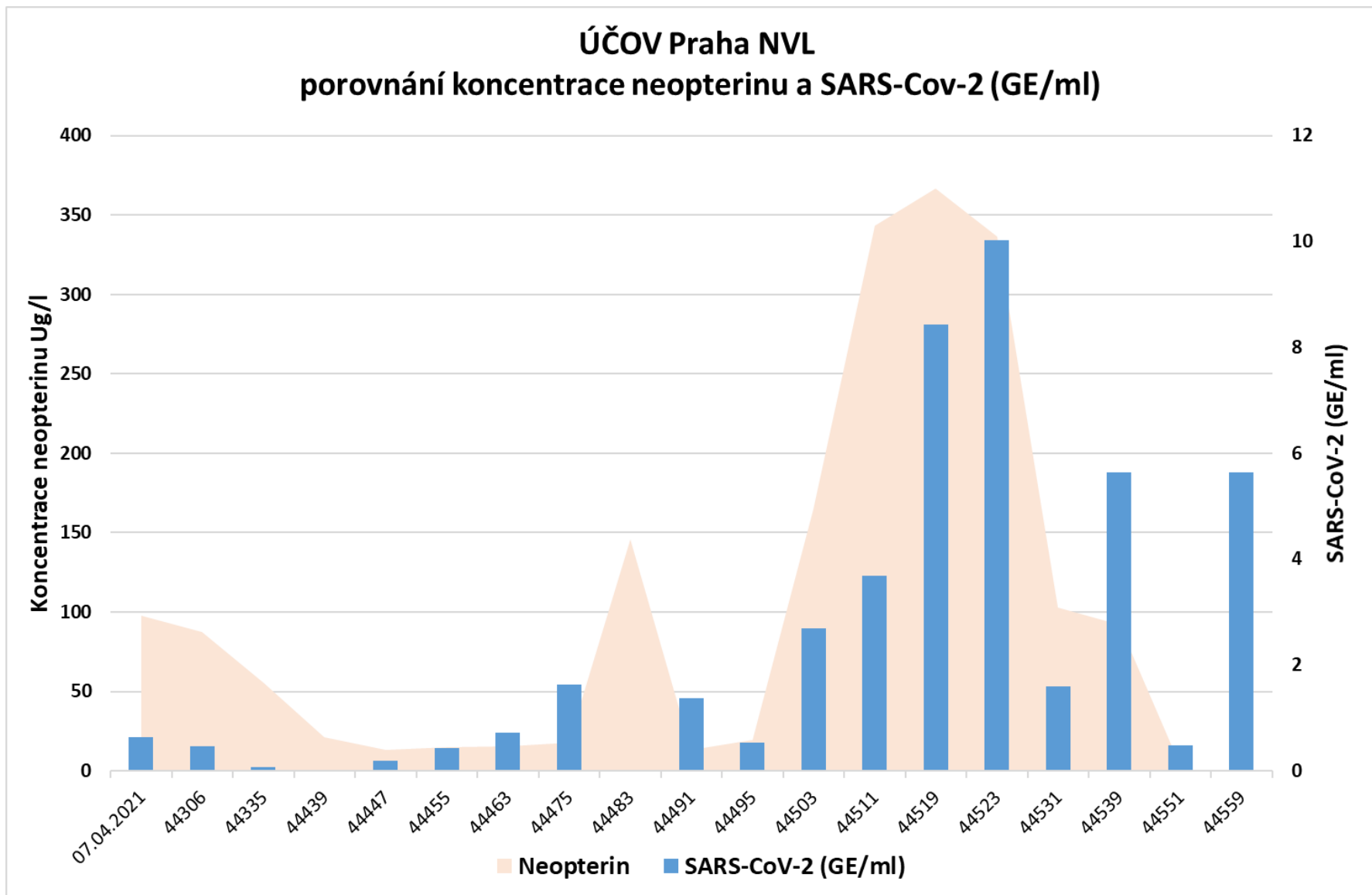
ČOV Brno



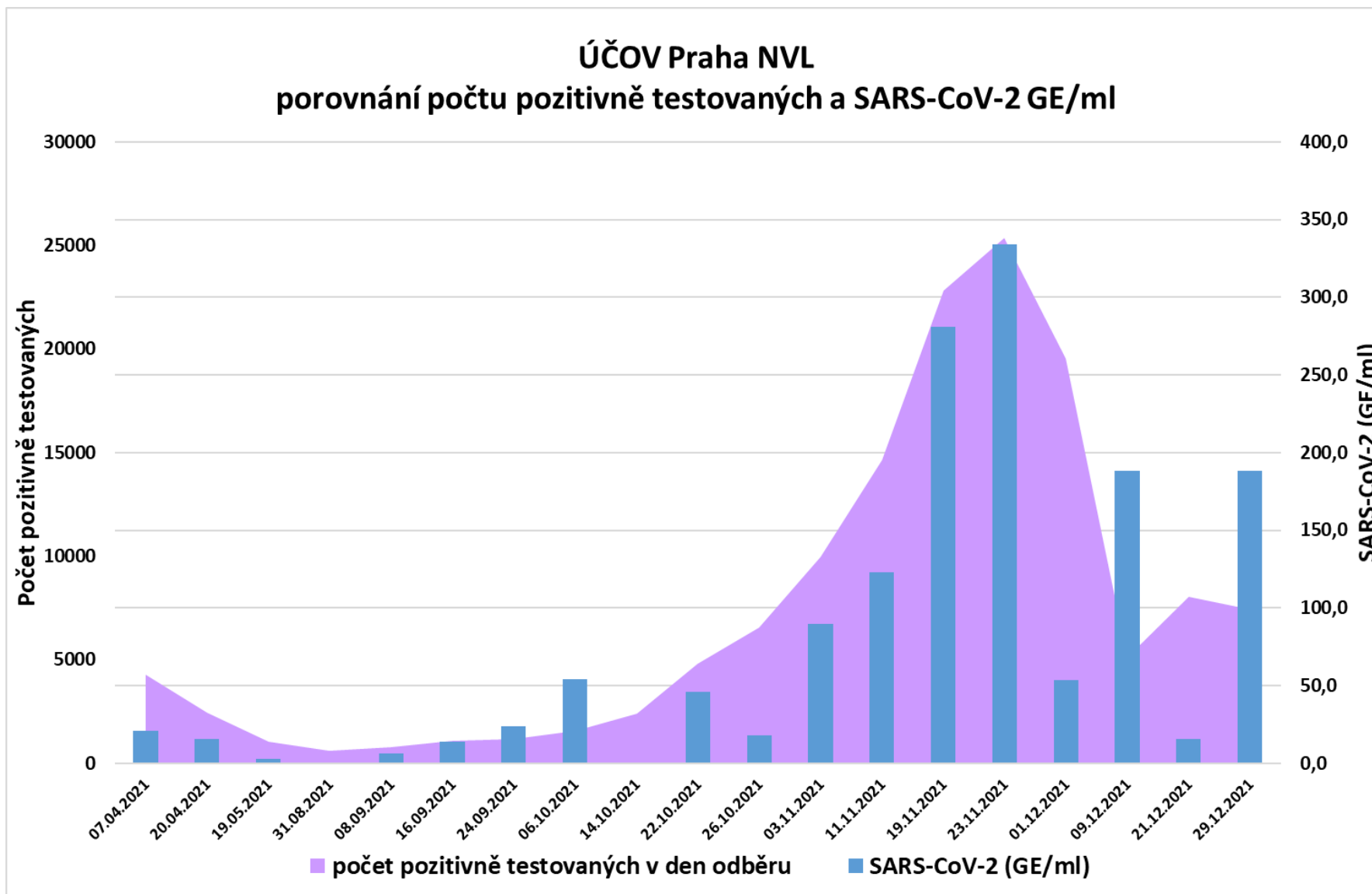
ÚČOV Praha NVL



ÚČOV Praha NVL



ÚČOV Praha NVL



Shrnutí

- **Neopterin** je nespecifický bioindikátor zánětlivých onemocnění, nelze tedy zjištěné koncentrace vztahovat pouze k počtu osob nemocných jednou chorobou, v tomto případě Covid-19.
- **Předpoklad:** neopterin se vyskytuje v OV stále, nejsou k dispozici žádná data mimo období pandemie Covid-19.
- **Plán:** sledovat koncentrace neopterinu v OV i v průběhu letošního roku, a zjistit, zda dochází k nárůstu koncentrace neopterinu např. při epidemii chřipky, která byla díky restrikcím v období šíření nemoci Covid-19 téměř zcela potlačena.

Shrnutí

Na základě zjištěných skutečností lze konstatovat, že neopterin jako prediktor zánětlivých onemocnění se jeví být vhodným nástrojem pro monitoring těchto onemocnění z pohledu WBE.

Doporučení: zařadit neopterin mezi sledované látky také jako nástroj včasného varování před nástupem infekčních zánětlivých onemocnění.

Poděkování



Tato studie byla podporována z projektu Ministerstva vnitra ČR VI04000017 ***Využití monitoringu odpadních vod jako nástroje včasného varování před vznikem epidemiologické situace.***

Realizace by nebyla možná bez spolupráce s příslušnými ČOV



Děkuji vám za pozornost