

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель министра,
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь

_____ М.И. Римжа
21 января 2008 г.
Регистрационный № 049-0707

**МЕТОДИКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА
ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
В ГРУДНОМ ЖЕНСКОМ МОЛОКЕ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: ГУ «Республиканский научно-
практический центр гигиены»

АВТОРЫ: канд. мед. наук И.А. Застенская, канд. хим. наук Н.И. Марусич,
канд. хим. наук О.В. Шуляковская, канд. хим. наук Е.Н. Баркатина,
Т.А. Федорова, Н.В. Буневич, Н.Н. Турко

Минск 2008

Настоящая Инструкция по применению определяет методические подходы, способ ведения биологического мониторинга хлорорганических соединений, включая полихлорированные дибензо-п-диоксины и дибензофураны (ПХДД/ПХДФ), полихлорированные бифенилы (ПХБ) и хлорорганические пестициды (ХОП) в женском грудном молоке в целях:

- оценки нагрузки хлорорганическими соединениями младенцев при грудном вскармливании;
- оценки контаминации организма для расчета риска негативного воздействия хлорорганических соединений на популяционном и индивидуальном уровне и выявления населения, подвергающегося негативному воздействию;
- разработки рекомендаций по снижению уровня контаминации организма хлорорганическими соединениями, снижения уровня риска развития заболеваний, детерминированных влиянием хлорорганических соединений, уменьшения реальной химической нагрузки, получаемой детьми на первом году жизни;
- стимулирования грудного вскармливания;
- контроля эффективности мероприятий по элиминации хлорорганических соединений из окружающей среды;
- обеспечения выполнения обязательств, принятых Республикой Беларусь при ратификации Стокгольмской Конвенции о стойких органических загрязнителях по снижению негативного воздействия хлорорганических соединений на здоровье населения;
- обеспечения участия Республики Беларусь в исследованиях по оценке риска хлорорганических соединений на международном уровне.

Инструкция предназначена для врачей-гигиенистов, эпидемиологов, педиатров и терапевтов при проведении токсикологических, эпидемиологических исследований, выявлении причин развития экологически обусловленных заболеваний, разработке профилактических мероприятий и может быть внедрена на уровне учреждений республиканского подчинения, областных и городских центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, родильных домов и других центров охраны здоровья матери и ребенка.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ, ПРЕПАРАТОВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

Для проведения количественного анализа остаточных количеств ПХДД/ПХДФ, ПХБ данный перечень изложен в Инструкции № 216-1205 «Определение полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в мясных, молочных, рыбных продуктах, а также в кормах методом хроматомасс-спектрометрии» (утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 28.12.05) и в Инструкции 109-1006 «Методика одновременного определения остаточных количеств полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в грудном женском молоке и продуктах животноводства с помощью газожидкостной хроматографии» (утв.

Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь (05.01.07).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Инструкция рекомендуется к применению в рамках системы социально-гигиенического мониторинга окружающей среды, выявления причинно-следственных связей развития экологически обусловленной патологии и для контроля содержания хлорорганических соединений в грудном молоке женщин, в диете которых преобладают продукты животного происхождения, такие как молоко и молочные продукты, мясо и мясопродукты, рыба, рыбо- и морепродукты, яйцо.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отказ донора от участия в проведении исследований.

Основные принципы и этапы проведения исследований:

- соблюдение этических норм, таких как согласие донора;
- взятие пробы не должно ухудшать питание ребенка (значительно сокращать объем молока, потребляемого младенцем с нарушением его пищевого статуса).

При проведении исследований на популяционном уровне доноры должны максимально представлять основные группы населения страны по демографическим и другим характеристикам (возраст, место проживания, образ жизни, характер питания, профессиональная деятельность).

При проведении исследований на популяционном уровне повторное исследование осуществляется через 4–5 лет.

Этапы исследования включают:

- выбор донора;
- анкетирование донора;
- анкетирование курирующего исследование медицинского работника;
- отбор проб грудного молока;
- аналитические лабораторные исследования по оценке содержания хлорорганических соединений в грудном молоке;
- оценка полученных результатов;
- разработка рекомендаций по коррекции диеты (при индивидуальных исследованиях) и принятие решений при популяционных исследованиях.

Выбор донора

При проведении индивидуальной оценки контаминации грудного молока критерием отбора пробы являются желание донора и/или рекомендации лечащего врача.

При проведении исследований на популяционном уровне выбор доноров осуществляется на основе следующих критериев:

- донорами должны быть первородящие женщины и/или женщины, впервые кормящие грудью;
- донорами должны быть женщины в возрасте старше 20 лет и моложе 30 лет;

- донорами могут быть женщины с нормально протекающей беременностью и родами;
- ВИЧ/СПИД-положительные матери исключаются из исследования;
- донором может быть женщина, рожденная и проживающая в республике до взятия пробы, в том числе на одном месте в течение последних 5 лет до взятия пробы.

Анкетирование доноров

Анкетирование доноров может проводиться до выбора доноров для получения необходимой информации в соответствии с критериями выбора доноров или после выбора, если необходимая информация по критериям отбора доноров получена ранее.

Анкета содержит необходимую для донора информацию с целью принятия решения о согласии/отказе участия в исследовании, вопросы, касающиеся возраста, биометрических характеристик женщины (рост, вес), места и длительности проживания, наличия промышленных предприятий в зоне проживания, профессиональной деятельности, вредных привычек, характера питания, субъективной оценки женщиной ее здоровья. Рекомендуемая анкета для доноров изложена в приложении 1 к настоящей Инструкции.

Анкетирование курирующего исследование медицинского работника

Курирующий медицинский работник представляет объективную информацию о состоянии здоровья матери и ребенка в дополнение к оценке донором. Кроме того, объективная информация о биометрических параметрах ребенка может впоследствии использоваться для оценки нарушений его роста и развития в результате воздействия СОЗ. Вопросы для курирующего медицинского работника (анкета) представлены в приложении 2 к настоящей инструкции.

Отбор проб грудного молока

До проведения отбора проб грудного молока медицинский работник, курирующий исследование, должен проинструктировать донора о требованиях к отбору проб. Указания для матерей, собирающих пробы молока, изложены в приложении 3 к настоящей инструкции. Желательно проводить отбор пробы в присутствии медицинского работника.

Отбор проб осуществляется в пробирки с завинчивающейся пробкой (стеклянные или изготовленные из химически инертного полимерного материала).

Отбор проб для индивидуального контроля (если женщина желает иметь информацию о контаминации грудного молока по личной инициативе или рекомендации врача) желательно (но не обязательно) проводить не позднее 8-й недели после родов. Проба молока для анализа ПХБ и ХОП должна содержать не менее 25 мл. Объем пробы для анализа содержания ПХДД/ПХДФ должен составлять 500,0 мл.

При проведении исследований на популяционном уровне отбор проб осуществляется не позднее 8-й недели после родов.

Объем пробы исследований — 50,0 мл (25,0 мл используется для анализа ПХБ и ХОП и 25,0 мл для формирования объединенной пробы на анализ ПХДД/ПХДФ). При наличии возможности производится отбор пробы 500,0 мл для выполнения индивидуального анализа на содержание ПХДД/ПХДФ.

Проба берется во время или после кормления ребенка грудью, пока работает рефлекс свободного отделения молока. Порция молока может храниться в холодильнике при температуре около 4°C не более 72 часов, в замороженном (при -20°C) состоянии — до 4 месяцев.

Проведение лабораторных исследований

Транспортировка проб в лабораторию осуществляется в замороженном состоянии. При отсутствии такой возможности в пробы добавляется бихромат калия перед транспортировкой.

Анализ содержания полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов осуществляется в соответствии с Инструкцией «Методика одновременного определения остаточных количеств ПХБ и ХОП в грудном молоке и продуктах животноводства с помощью газожидкостной хроматографии» № 109-1006, утвержденной Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 05.01.06.

Анализ содержания ПХДД/ПХДФ проводится в соответствии с Инструкцией № 216-1205 «Определение полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в мясных, молочных, рыбных продуктах, а также в кормах методом хроматомасс-спектрометрии» (утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 28.12.05).

Анализ содержания остаточных количеств ПХБ проводится в соответствии с Инструкцией № 109-1006 «Методика одновременного определения остаточных количеств полихлорированных бифенилов и хлорорганических пестицидов в грудном женском молоке и продуктах животноводства с помощью газожидкостной хроматографии» (утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 05.01.07).

Содержание жира в грудном молоке определяется в соответствии с ГОСТ 5867-90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира».

Оценка результатов

Оценка результатов проводится по следующим показателям:

ХОП — гексахлорбензол (ГХБ), α -, β -, γ -изомеры гексахлорциклогексана (ГХЦГ), гептахлор, альдрин, ДДТ, ДДД, ДДЕ;

ПХБ — ПХБ-28, ПХБ-52, ПХБ-101, ПХБ-118, ПХБ-138, ПХБ-153, ПХБ-180;

ПХДД — 2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин, 1,2,3,7,8-пентахлордибензо-п-диоксин, 1,2,3,4,7,8-гексахлордибензо-п-диоксин, 1,2,3,6,7,8-гексахлордибензо-п-диоксин, 1,2,3,7,8,9-гексахлордибензо-п-диоксин, 1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензо-п-диоксин, октахлордибензо-п-диоксин;

ПХДФ — 2,3,7,8-тетрахлордибензофуран, 1,2,3,7,8-пентахлордибензофуран, 2,3,4,7,8-пентахлордибензофуран, 1,2,3,4,7,8-

гексахлордibenзофуран, 1,2,3,6,7,8-гексахлордibenзофуран, 1,2,3,7,8,9-гексахлордibenзофуран, 2,3,4,6,7,8-гексахлордibenзофуран, 1,2,3,4,6,7,8-гептахлордibenзофуран, 1,2,3,4,7,8,9-гептахлордibenзофуран, октахлордibenзофуран;

диоксиноподобные ПХБ – ПХБ-77, ПХБ-81, ПХБ-126, ПХБ-169, ПХБ-105, ПХБ-114, ПХБ-118, ПХБ-123, ПХБ-156, ПХБ-157, ПХБ-167, ПХБ-189.

Анализ результатов осуществляется на основе оценки содержания ПХБ/ ХОП, ПХДД/ПХДФ/диоксиноподобных ПХБ в мг/кг жира и нг/кг молочного жира соответственно. Для этого первоначально определяется общая сумма содержания ПХБ, сумма ДДТ и его метаболитов, сумма изомеров ГХЦГ, гептахлора, ГХБ, альдрина в мг в 1 кг цельного грудного молока. Затем найденное количество указанных выше контаминантов умножается на коэффициент пересчета, который рассчитывается по формуле:

$$K = 100/a,$$

где K — коэффициент пересчета;
a — массовая доля жира, %.

Анализ содержания ПХДД/ПХДФ/диоксиноподобных ПХБ проводится с учетом их диоксинового эквивалента. Диоксиновые эквиваленты соединений представлены в Приложении 4 к настоящей Инструкции. Для этого первоначально определяется содержание указанных выше контаминантов в пг (пикограммах) на 1 кг цельного молока. Затем производится расчет токсичности каждого из них с учетом диоксинового эквивалента путем умножения концентрации на величину эквивалента. Затем определяется их сумма и рассчитывается с учетом жирности молока способом, указанным выше.

Расчет дозы, получаемой ребенком, производится с учетом его массы, количества потребляемого молока и полученных результатов по контаминации грудного молока:

$$D=V \times C/M,$$

где V — количество молока (кг);
C — найденная концентрация контаминанта (их суммы);
M — масса тела ребенка.

Оценка результатов производится путем их сравнения с нормами, рекомендованными Всемирной организацией здравоохранения.

Рекомендованные допустимые уровни суточной нагрузки указаны в таблице.

Таблица

Допустимая суточная доза (ДСД) на организм ребенка

Наименование контаминанта	Σ ГХЦГ	Σ ДДТ и его метаболитов	Σ ПХБ	Σ ПХДД/ПХДФ/ПХБ
ДСД	10 мкг/кг	20 мкг/кг	4,2 мкг/кг	1,0 пг/кг

При проведении популяционных исследований производится сравнительная оценка результатов в различных регионах для обоснования решений, а также сравнение результатов с данными, полученными в других странах, и с данными, полученными в республике при повторных исследованиях.

Разработка рекомендаций по коррекции диеты (при индивидуальных исследованиях) и принятия решений при популяционных исследованиях

1. В случае обнаружения превышений содержания в грудном женском молоке рекомендуемых значений допустимой суточной дозы для ребенка целесообразно изменить на период кормления характер питания и потребляемых продуктов:

исключить из рациона рыбу хищных сортов;

заменить молоко и молочные продукты с содержанием жира 3,5% и более на 1,5%;

исключить из рациона блюда из свинины, заменив нежирными сортами мяса (например, телятина, мясо птицы);

увеличить содержание в рационе продуктов животного происхождения.

2. Алгоритм действий при обнаружении высоких концентраций в отдельных регионах при популяционных исследованиях включает:

- выявление потенциального источника: анализ источников продуктов питания у женщин с высокой концентрацией контаминантов; выявление потенциальных антропогенных источников загрязнения атмосферы, питьевой воды (проводится только после исключения возможности загрязнения в связи с потреблением продуктов питания);

- принятие комплексных мер по предотвращению загрязнения продуктов питания, других объектов окружающей среды хлорорганическими соединениями;

- информирование населения (особенно беременных, кормящих и планирующих рождение ребенка женщин) о необходимости исключения из диеты продуктов, являющихся источником хлорорганических соединений.

3. При отсутствии положительной динамики (снижения) концентрации хлорорганических соединений в грудном женском молоке при повторных популяционных исследованиях при реализации планов и программ на национальном и местном уровнях рекомендуется инициировать пересмотр подходов и предпринимаемых мер как неэффективных с позиций охраны здоровья и окружающей среды.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Хранение документов (анкет, полученных результатов) осуществляется в соответствии с национальными и международными нормами конфиденциальности.

Анкета для донора

Имя, фамилия:	Возраст:
Вес до беременности:	Рост:
Это Ваши первые роды? <input type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> нет	
Место жительства (город/ деревня, район, улица, дом, квартира):	Как долго проживаете по этому адресу? Тел:
Меняли ли Вы место жительства в последние 10 лет? <input type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> нет Если «да», укажите, где и как долго жили в течение последних 10 лет	
Есть ли рядом с Вашим домом какие-либо заводы, фабрики? <input type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> нет Если «да», укажите какие (название предприятия указывать не обязательно; можно указать, например, «металлургический завод», или «предприятие по производству цемента» или «склад удобрений и химикатов» (в сельской местности))	
Где и кем Вы работаете (работали до и во время беременности), учитесь?	Сколько лет (месяцев) Вы работаете (учитесь) в этой организации?
Меняли ли Вы место работы или профессию в течение последних 10 лет? <input type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> нет	
Если «да», укажите, где, кем и как долго работали в последние 10 лет	
Курите ли Вы (курили ли до беременности)?	Если «да», укажите, с какого возраста курите (курили):

да нет

Какие продукты питания Вы предпочитаете (любите)? Укажите все подходящие ответы:

у меня нет предпочтений мясо, мясные продукты, птица

овощи и фрукты яйца

молоко и молочные изделия рыба, изделия из рыбы, морепродукты

Как часто Вы употребляли следующие продукты до беременности? Указать все подходящие ответы знаком «плюс»:

	Рыба	Море-продукты, кроме рыбы	Молоко и молочные продукты	Мясо, мясопродукты, птица	Яйца
Никогда					
Реже, чем раз в неделю					
Раз в неделю					
Два раза в неделю					
Чаще, чем два раза в неделю, но не каждый день					
Каждый день					

Где Вы берете продукты питания? Укажите два наиболее подходящих ответа:

покупаю в магазине покупаю на рынке

выращиваю на приусадебном участке/ даче/ в подсобном хозяйстве покупаю у частных

Есть ли у Вас аллергические заболевания или аллергия? Отметьте все подходящие ответы:

- нет
- да, у меня есть аллергическое заболевание (укажите, какое)
- аллергия на пищу (укажите, на какие продукты питания, если знаете)

- аллергия на косметику, парфюмерию
- сезонная аллергия при цветении растений
- аллергия на домашних животных
- другое (укажите, что именно)

Как часто у Вас бывают простудные заболевания? Укажите один наиболее подходящий ответ:

- реже, чем 1 раз в год
- один раз в год
- два раза в год
- чаще, чем два раза в год

Планируете ли Вы кормить ребенка грудью? да нет

Дата:

Подпись:

Анкета для курирующего исследование медицинского работника

1. Идентификационный номер анкеты (соответствующий номеру пробы грудного молока):	
2. Характеристика состояния здоровья матери: <input type="checkbox"/> практически здорова <input type="checkbox"/> есть отклонения в здоровье	
2.1. Соматическая патология, функциональные расстройства (перечислить в соответствии с диагнозом):	
2. 2. Данные лабораторных исследований (указываются сведения только о показателях, выходящих за пределы нормы):	
3. Характеристика состояния здоровья ребенка	
3.1. При рождении	
3.2. При выписке из стационара	
Дата:	Подпись:

Указания для матерей, сдающих пробы грудного молока

Следовать изложенным ниже указаниям необходимо для избежания загрязнения пробы при ее сборе.

Пробу можно взять путем сцеживания вручную или с помощью молокоотсоса. Помните:

- для сбора пробы не может использоваться никакая другая посуда, кроме той, которая предоставлена Вам медицинским работником;
- перед сбором пробы грудного молока вымойте руки и промойте грудь теплой водой без применения мыла или каких-либо других средств (они могут содержать химические вещества, которые будут мешать исследованию); если есть необходимость использования мыла, после его применения промойте грудь большим количеством воды;
- не используйте мази для груди и сосков до сбора пробы.

Для того чтобы сделать сцеживание и сбор грудного молока более легким, быстрым и удобным, придерживайтесь следующих советов.

Для сцеживания рекомендуется пользоваться молокоотсосом, так как с его помощью можно сцедить «застоявшееся» молоко с большим содержанием жира, что, в свою очередь, будет способствовать повышению объективности исследования.

Брать пробу рекомендуется во время кормления (из другой груди) или после завершения кормления ребенка.

Ребенок не должен получить меньше молока в связи с Вашим участием в исследовании!

Если за один раз Вы не собрали 50,0 мл молока, частично собранную пробу можно хранить в холодильнике, и сбор пробы продолжить на следующий день. В целом хранить пробу в холодильнике и собирать грудное молоко порциями можно в течение 72 часов. После того, как проба (50,0 мл) собрана (за один раз или в несколько приемов), ее необходимо заморозить.

Доставьте пробу в медицинское учреждение, по возможности, в замороженном состоянии, или информируйте медицинского работника о возможности транспортировки пробы на исследование.

Благодарим за участие в проведении исследования!

Диоксиновые эквиваленты полихлорированных дибензо-п-диоксинов, дибензофуранов и диоксиноподобных полихлорированных бифенилов

Название вещества	Диоксиновый эквивалент (ВОЗ, 2005)
Полихлорированные дибензо-п-диоксины	
2,3,7,8-тетрахлордибензо-п-диоксин	1,0
1,2,3,7,8-пентахлордибензо-п-диоксин	1,0
1,2,3,4,7,8-гексахлордибензо-п-диоксин	0,1
1,2,3,6,7,8-гексахлордибензо-п-диоксин	0,1
1,2,3,7,8,9-гексахлордибензо-п-диоксин	0,1
1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензо-п-диоксин	0,01
октахлордибензо-п-диоксин	0,0003
Полихлорированные дибензофураны	
2,3,7,8-тетрахлордибензофуран	0,1
1,2,3,7,8-пентахлордибензофуран	0,03
2,3,4,7,8-пентахлордибензофуран	0,3
1,2,3,4,7,8-гексахлордибензофуран	0,1
1,2,3,6,7,8-гексахлордибензофуран	0,1
1,2,3,7,8,9-гексахлордибензофуран	0,1
2,3,4,6,7,8-гексахлордибензофуран	0,1
1,2,3,4,6,7,8-гептахлордибензофуран	0,01
1,2,3,4,7,8,9-гептахлордибензофуран	0,01
октахлордибензофуран	0,0003
Полихлорированные бифенилы (незамещенные и моно-орто-замещенные)	
3,3',4,4' – тетрахлорбифенил (ПХБ-77)	0,0001
3,4,4',5 – тетрахлорбифенил (ПХБ-81)	0,0003
3,3',4,4',5 – пентахлорбифенил (ПХБ-126)	0,1
3,3',4,4',5,5' – гексахлорбифенил (ПХБ-169)	0,03
2,3,3',4,4' – пентахлорбифенил (ПХБ-105)	0,00003
2,3,4,4',5 – пентахлорбифенил (ПХБ-114)	0,00003
2,3',4,4',5 – пентахлорбифенил (ПХБ-118)	0,00003
2',3,4,4',5 – пентахлорбифенил (ПХБ-123)	0,00003
2,3,3',4,4',5 – гексахлорбифенил (ПХБ-156)	0,00003
2,3,3',4,4',5' – гексахлорбифенил (ПХБ-157)	0,00003
2,3',4,4',5,5' – гексахлорбифенил (ПХБ-167)	0,00003
2,3,3',4,4',5,5' – гексахлорбифенил (ПХБ-189)	0,00003