

### Inhaltsverzeichnis

<b>1 Umweltprobenbank des Bundes .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Ziel der Probenahme .....</b>	<b>1</b>
<b>3 Funktion der Probe.....</b>	<b>1</b>
<b>4 Probenahmeplan.....</b>	<b>1</b>
4.1    Bevölkerungsrepräsentanz .....	2
4.2    Zeitpunkt .....	2
<b>5 Probenahmematerial .....</b>	<b>2</b>
5.1    Kontaminationsrisiken.....	2
5.2    Reinigung .....	2
5.3    Präparation.....	3
5.4    Kennzeichnung der Probengefäße .....	3
<b>6 Probensammlung .....</b>	<b>3</b>
<b>7 Charakterisierung .....</b>	<b>3</b>
<b>8 Probenaufbereitung.....</b>	<b>3</b>
<b>9 Analytik.....</b>	<b>4</b>
9.1    Klinisch-chemische Parameter .....	4
9.2    Anorganische Parameter .....	4
9.3    Organische Parameter.....	4
<b>10 Einlagerung .....</b>	<b>4</b>
<b>11 Entnahme der Probe zur Untersuchung.....</b>	<b>4</b>

# 1 Umweltprobenbank des Bundes

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) ist ein Instrument der Umweltbeobachtung des Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) unter fachlicher und administrativer Koordinierung des Umweltbundesamtes (UBA). Die UPB sammelt ökologisch repräsentative Umweltproben sowie Humanproben, lagert sie ein und untersucht sie auf umweltrelevante Stoffe. Die Langzeitlagerung erfolgt unter Bedingungen, die eine Zustandsveränderung oder einen Verlust chemischer Eigenschaften über einen Zeitraum von mehreren Jahrzehnten weitestgehend ausschließen. Damit stellt das Archiv Proben für die retrospektive Untersuchung solcher Stoffe bereit, deren Gefährdungspotential für die Umwelt oder die menschliche Gesundheit heute noch nicht bekannt ist.

Umfassende Informationen zur UPB sind unter [www.umweltprobenbank.de](http://www.umweltprobenbank.de) verfügbar.

## 2 Ziel der Probenahme

Die 24-h-Sammelurinproben werden durch anamnestische Erhebungen und eingangsanalytische Untersuchungen charakterisiert und als individuelle Proben bei  $-150^{\circ}\text{C}$  eingelagert.

## 3 Funktion der Probe

Die Niere ist das Hauptausscheidungsorgan für resorbierte anorganische und organische Xenobiotika. Für essentielle Bestandteile des menschlichen Körpers fungiert es als Regulationsorgan. Über die Gehaltsbestimmungen im Urin lassen sich Expositionen gegenüber Fremdstoffen erkennen. Gleichmaßen liefert diese Matrix wertvolle Informationen über den individuellen Gesundheitszustand. Die Sammlung über 24

Stunden ist erforderlich, um die Gesamtausscheidung eines Analyten festzustellen. Spontanurine können wegen ihrer unterschiedlichen Dichte bzw. Konzentration ihrer Bestandteile untereinander kaum verglichen werden. Urin ist eine leicht verfügbare Matrix vom Lebenden.

## 4 Probenahmeplan

Beim Aufstellen eines Probenahmeplans im Humanbereich muss bei der Asservierung von Urinproben berücksichtigt werden, dass die Proben nur mit Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission und der schriftlichen Zustimmung des Probanden und nur von autorisierten Personen genommen werden können. Der Probenahmeplan kann folglich nur sehr allgemeine Rahmenbedingungen festlegen.

Für eine ausreichende Charakterisierung der Probe ist die Erhebung umfassender individueller anamnestischer Daten unerlässlich. Die Fragebogenerhebung trägt neben der soziodemographischen Charakterisierung der Probanden zur Expositionsabschätzung und zur Interpretation der durch das Human-Biomonitoring gewonnenen Daten bei.

In diesem Zusammenhang stehen nicht nur die Verhaltensweisen der Probanden im Hinblick auf mögliche Expositionsquellen im Mittelpunkt, sondern auch Fragen zur Wohnlage und zu den Ernährungsgewohnheiten.

Der Fragebogen ist zum Selbstauffüllen konzipiert. Er setzt sich aus einem allgemeinen und einem spezifischen Teil zusammen.

Im ersten Teil werden überwiegend anthropometrische Daten (z. B. Alter, Größe, Gewicht, Geschlecht) der Teilnehmer erfragt. Darüber hinaus klärt dieser Teil des Fragebogens die gängigen personenbeschreibenden Daten der teilnehmenden Probanden.

Der zweite Teil erfasst neben Parametern des gesundheitlichen Status Fragen zu Ernährungsgewohnheiten, Medikamentenverbrauch und Umweltexpositionen sowie die Abfrage möglicher Grunderkrankungen.

#### 4.1 Bevölkerungsrepräsentanz

Durch die Wahl studentischer Probandenkollektive werden überwiegend gesunde junge Menschen beiderlei Geschlechts im Alter von 20 bis 29 Jahren erfasst. Die soziodemographisch relativ einheitliche Struktur der Kollektive erlaubt retrospektive Untersuchungen zum Trendverhalten einer substanzialen Fremdstoffbelastung beim Menschen mit nur einer relativ geringen Probandenzahl. Überdies ist bei studentischen Kollektiven der lokale Einfluss der Probenahmestandorte relativ gering.

#### 4.2 Zeitpunkt

Es wird jährlich fortlaufend für eine aktuelle Trendanalyse (Real-Time-Monitoring; RTM) wie auch für die Einlagerung bei  $-150^{\circ}\text{C}$  zur retrospektiven Analytik in der ersten Jahreshälfte je ein Probenahmetermin in Münster, Greifswald, Halle/Saale und Ulm mit je ca. 120 Probanden durchgeführt.

### 5 Probenahmematerial

- 1 x 3 l Urinsammelgefäß (Sarstedt 77.575)
- 3 x 30 ml Polypropylenröhrchen mit Schraubdeckel (Sarstedt 60.544)
- 9 x 13,5 ml Polypropylenröhrchen mit Schraubdeckel (Sarstedt 60.541.003)
- 250 ml Messzylinder aus Polypropylen
- Aerometer zur Dichtebestimmung
- Messgerät zur Bestimmung der Leitfähigkeit
- Waage (Messbereich 0,1 bis 6.000 g)
- Reinraumarbeitsplatz Klasse 100
- Vakuumschweißgerät
- Polyethylengefrierbeutel
- Thermodrucker

- Cryobeständige Etiketten
- Wasserfester Faserstift
- 2%ige Salpetersäure (hergestellt aus 65%iger Salpetersäure p.a.)
- Methanol für die Rückstandsanalytik
- Bidestilliertes Wasser

#### 5.1 Kontaminationsrisiken

Möglichen Kontaminationsrisiken wird durch Reinigung der 3 Liter Urinsammelflasche vorgebeugt.

#### 5.2 Reinigung

Zur Urinasservierung wird jedem Probanden jeweils eine 3 Liter Urinsammelflasche mit Schraubdeckelverschluss aus Polyethylen (Sarstedt 77.575) zur Verfügung gestellt. Das Urinsammelgefäß wird mit destilliertem Wasser zur Entfernung eventueller herstellungsbedingter wasserlöslicher Kontaminanten gespült und unter der Clean bench (Reinraumklasse 100) getrocknet.

Pro Proband werden zur Portionierung der 24-h-Sammelurinproben für die Eingangsanalytik und zur Tiefkühlagerung insgesamt weitere 12 Probengefäße benötigt. Alle diese Gefäße werden gleichartig gereinigt, um mögliche herstellungsbedingte Kontamination zu entfernen.

Zur Entfernung möglicher organischer Kontaminanten werden die Probengefäße zur Hälfte mit Methanol gefüllt, geschlossen, 15 s geschüttelt, geleert und zur Verdunstung der letzten Lösungsmittelreste offen unter die Clean bench (Reinraumklasse 100) gestellt. Bis zur weiteren Verwendung werden die Gefäße verschlossen gelagert.

Zur Entfernung möglicher anorganischer Kontaminanten werden die Probengefäße mit 2%iger Salpetersäure (aus 65%iger Salpetersäure p.a. durch Verdünnen mit Reinstwasser hergestellt) bis zum Rand gefüllt, mit einem Stopfen verschlossen, geschüttelt und über Nacht stehen gelassen. Anschließend werden

die Gefäße inklusive Stopfen dreimal mit Reinstwasser gewaschen und an einem Reinraum-Arbeitsplatz (Clean bench; Reinraumklasse 100) offen getrocknet. Bis zur weiteren Verwendung werden sie verschlossen gelagerter.

Folgende Probengefäße werden verwendet:

**Urinasservierung:**

- 1 x 3 Liter Urinsammelflasche mit Schraubdeckelverschluss aus Polyethylen (Sarstedt 77.575)

**Subportionierung:**

- 3 x 30 ml Polypropylenröhrchen mit Schraubdeckel (Sarstedt 60.544)
- 9 x 13,5 ml Polypropylenröhrchen mit Schraubdeckel (Sarstedt 60.541.003)

**Durchführung der Subportionierung:**

- 1 x 250 ml Messzylinder aus Polypropylen. Der Messzylinder wird jeweils mit der nachfolgenden Urinprobe gespült.

### 5.3 Präparation

*keine*

### 5.4 Kennzeichnung der Probengefäße

Alle Probengefäße werden nach der Reinigung und Präparation mit auf einem croybeständigen Etikett gedrucktem Barcode beschriftet. Der Code enthält die fortlaufende Nummer des RTM-Termins sowie die Probandennummer. Alternativ kann die Beschriftung auch mit einem wasserfesten Faserstift erfolgen.

Das Urinsammelgefäß wird dem Probanden bereits vor dem eigentlichen Probenahmetermin zur Verfügung gestellt. Am Entnahmetag wird die Codierungs-Nummer (Probandennummer) vergeben und das Sammelgefäß mit einem Barcode gekennzeichnet. Alternativ kann die Kennzeichnung

auch mit einem wasserfesten Faserstift erfolgen.

## 6 Probensammlung

Jeder Proband erhält vor dem Termin ein Sammelgefäß mit der Weisung, die "Sammelvorschrift" einzuhalten.

Der Urin wird über einen Zeitraum von 24 Stunden vollständig in die 3-Liter-Sammelgefäße entleert. Es darf nur einmal ein Morgenurin dabei sein, d. h., wenn die Sammlung mit dem ersten Morgenurin begonnen wurde, ist sie mit der letzten Nachtleerung beendet.

Am besten ist die Sammelperiode so zu legen, dass sie am Probenahmetermin beendet ist.

## 7 Charakterisierung

Die Charakterisierung der Probe erfolgt durch anamnestische Datenerhebung (s. Erhebungsbogen und Datenblatt Zahnstatus im Anhang), Eingangsanalytik und der Zuordnung zu RTM-Termin und Probandennummer.

## 8 Probenaufbereitung

Nach Abgabe des Urinsammelgefäßes wird die 24-Stunden-Gesamturinmenge gewogen und auf dem Datenblatt „Zwischenliste 24-h-Sammelurin“ dokumentiert. Anschließend werden Dichte und Leitfähigkeit des Urins bestimmt. Nach gutem Durchmischen (Schütteln) werden dazu ca. 200 ml Urin in einen 250 ml Messzylinder aus Polypropylen (z. B. Plastibrand, Fa. Brand) gegossen und mit einem Aerometer (z. B. Assistent Urinprober 204, Fa. Assistent) die Dichte bestimmt und die elektrische Leitfähigkeit gemessen. Der Urin wird verworfen. Für die Aliquotierung wird der so vorgespülte Zylinder erneut gefüllt und die vorbereiteten Röhrchen befüllt. 3 x 30 ml-Röhrchen sowie 7 x 13,5 ml

Röhrchen sind für die Einlagerung bei -150 °C bestimmt.

## **9 Analytik**

Insgesamt 2 x 13,5 ml-Röhrchen stehen der Eingangsanalytik zur Verfügung.

### **9.1 Klinisch-chemische Parameter**

Neben Gesamtmenge, Dichte und Leitfähigkeit des 24-h-Sammelurins wird zusätzlich der Creatinin-Gehalt als potentielle Normierungsgröße bestimmt.

### **9.2 Anorganische Parameter**

Für die Direktanalyse wird ein Teil des 24-h-Urins nach laborüblicher Verfahrensweise für die Analyse vorbereitet. Gemessen werden essentiellen und akzidentellen Elemente (insbesondere Arsen, Cadmium, Calcium, Kupfer und Quecksilber).

### **9.3 Organische Parameter**

In einem Teil des 24-h-Urins wird der Gehalt an Pentachlorphenol bestimmt.

## **10 Einlagerung**

Die Probengefäße werden bei auswärtigen Probenahmetermen jeweils am Abend des Entnahmetages bei -150°C in transportable LN<sub>2</sub>-Cryobehälter eingefroren und in gefrorenem Zustand in die Spezial-Aluminium-Racks der Cryogefäße der Probenbank überführt. Für den Transport werden die Proben in Polyethylengefrierbeutel verpackt und eingeschweißt.

## **11 Entnahme der Probe zur Untersuchung**

Die Entnahme einer eingelagerten Probe zur retrospektiven Untersuchung bedarf der Zustimmung des Umweltbundesamtes.