

Přístupy ke sledování parazitických prvoků ve vodách (s důrazem na *Cryptosporidium*)

Petr Pumann
Jaroslav Šašek

Státní zdravotní ústav

Výskyt ve vodě (1)

Ø výskyt oocyst v povrchových a povrchovými vodami ovlivněných vodách je běžný

zdroje oocyst:

Ø zvířata (domácí i volně žijící)

Ø nečištěné i čištěné odpadní vody

Výskyt v prostředí (2)

- Ø výskyt např. řas a volně žijících prvoků bývá o několik řádů větší než oocyst kryptosporidií
- Ø výskyt není v čase rovnoměrný (např. zvýšení po deštích) a to především v pitné vodě

Různé přístupy ke sledování oocyst

- Ø Přímé stanovení
- Ø Indikátory a zástupná stanovení
- Ø Využití organismů, které vychytávají oocysty z vody a kumulují je ve svých tělech
- Ø Séroepidemiologické studie

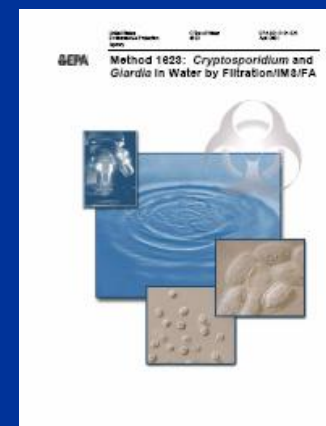


Přímé stanovení oocyst ve vodě

Metody USEPA

<http://www.epa.gov/nerlcwww/index.html>

- Ø ICR – součástí i metoda na stanovení parazitických prvoků (1995)
- Ø Method 1622: *Cryptosporidium* Water by Filtration/IMS/FA (2001)
- Ø Method 1623: *Cryptosporidium* and *Giardia* in Water by Filtration/IMS/FA (2001)





Metody Anglie, Wales

<http://www.dwi.gov.uk/regs/crypto/mainindex.htm>

Standard Operating Protocols (SOPs)

Ø rozdíl od EPA metod používá jiný typ filtrů

ISO/DIS 15553

Ø v přípravě

Ø ISO/DIS 15553 Water quality - Isolation and enumeration of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water

Ø kombinace postupů EPA, anglických SOPs



Zahuštění

*koncentrace oocyst ve vodě bývá nízká;
nutné zpracovat velký objem vody
desítky až tisíce litrů přes speciální filtry*

Ø filtrace (speciální filtry)

Ø odstředění (průtokové centrifugy)

Ø flokulace

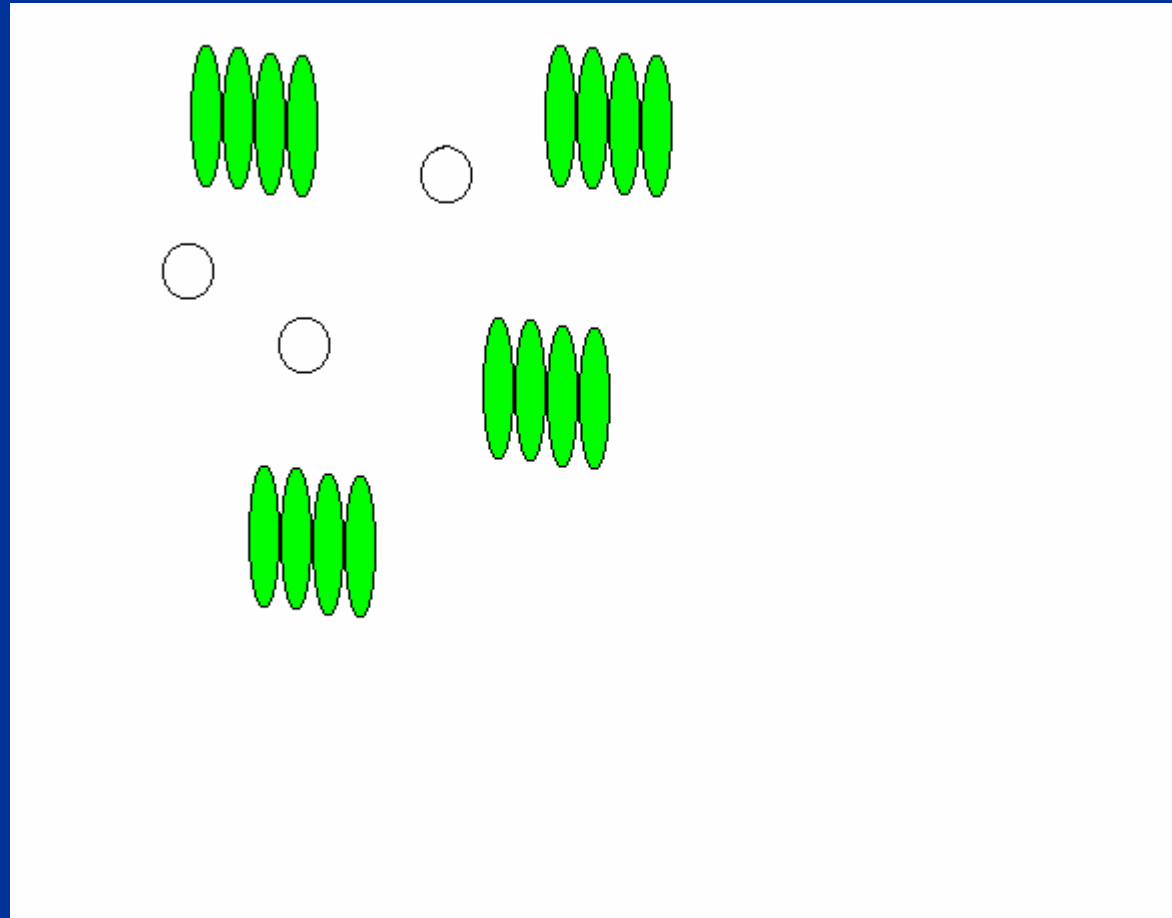
Čištění

v zahuštěném vzorku bývá velké množství různých organismů a neživých částic; nutnost pročištění

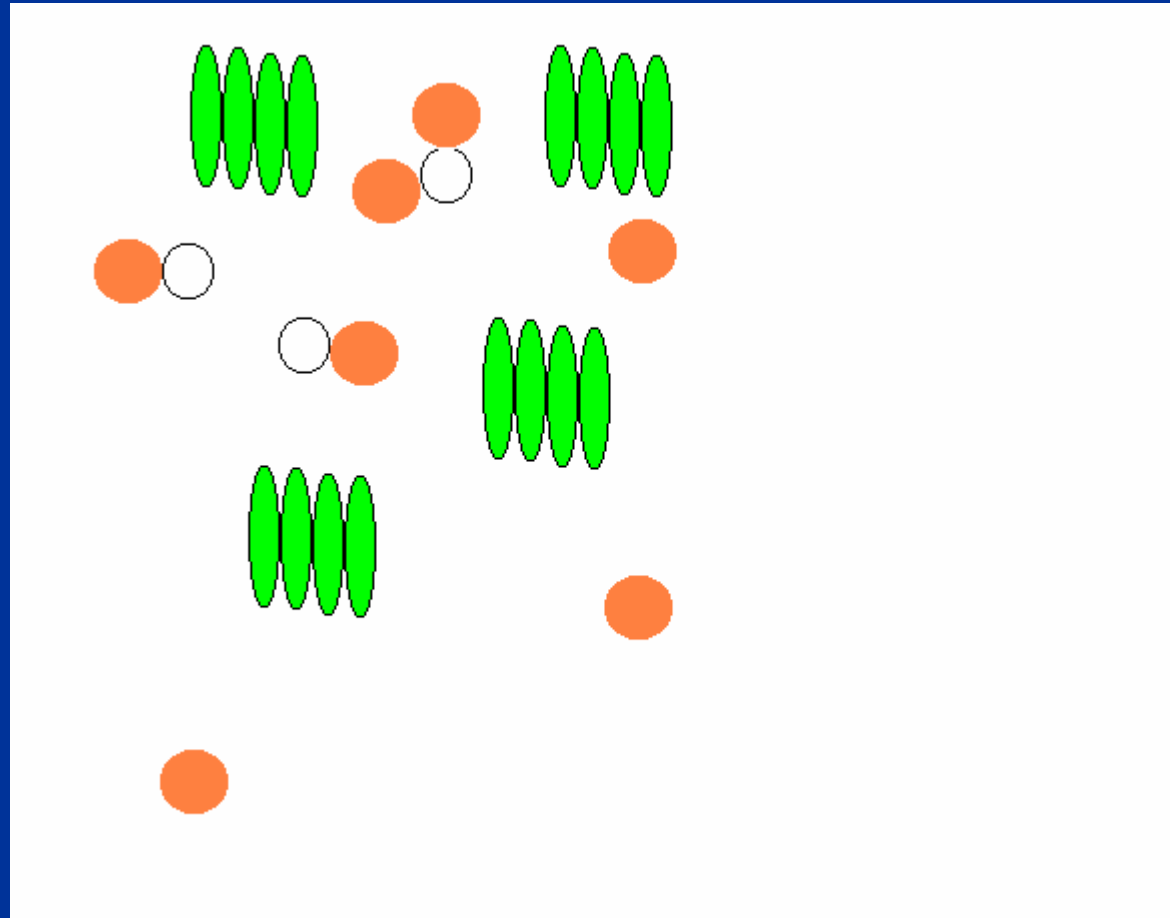
ØIMS (imunomagnetická separace)

Øgradientová centrifugace, flotace

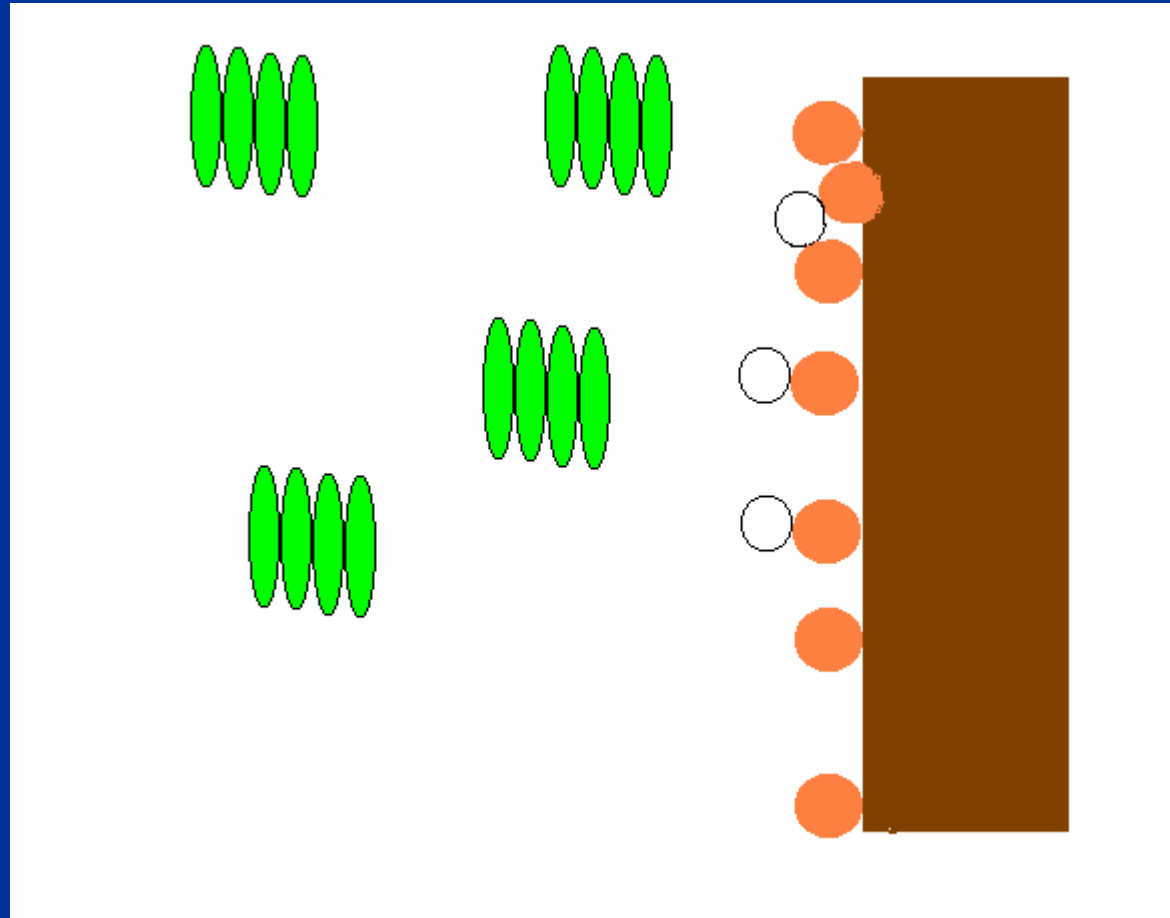
Imunomagnetická separace



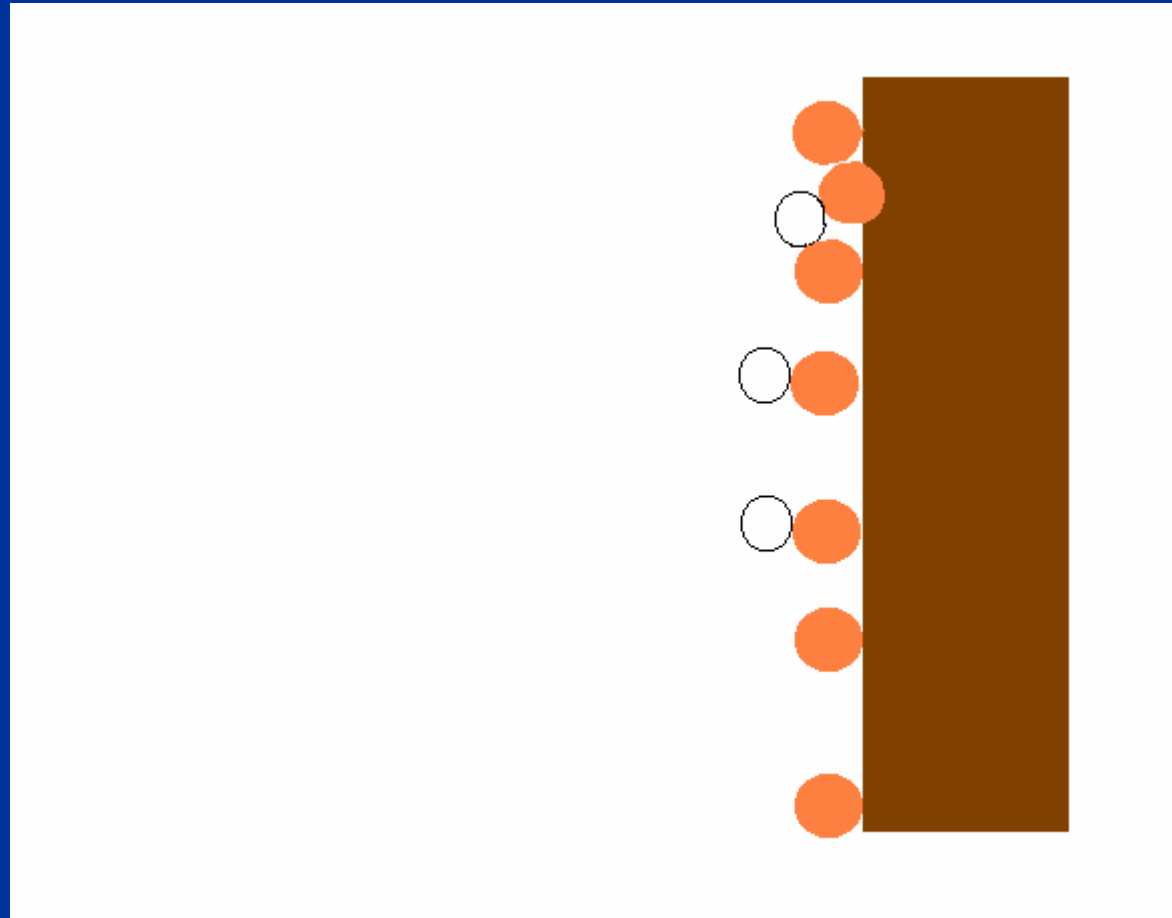
Imunomagnetická separace



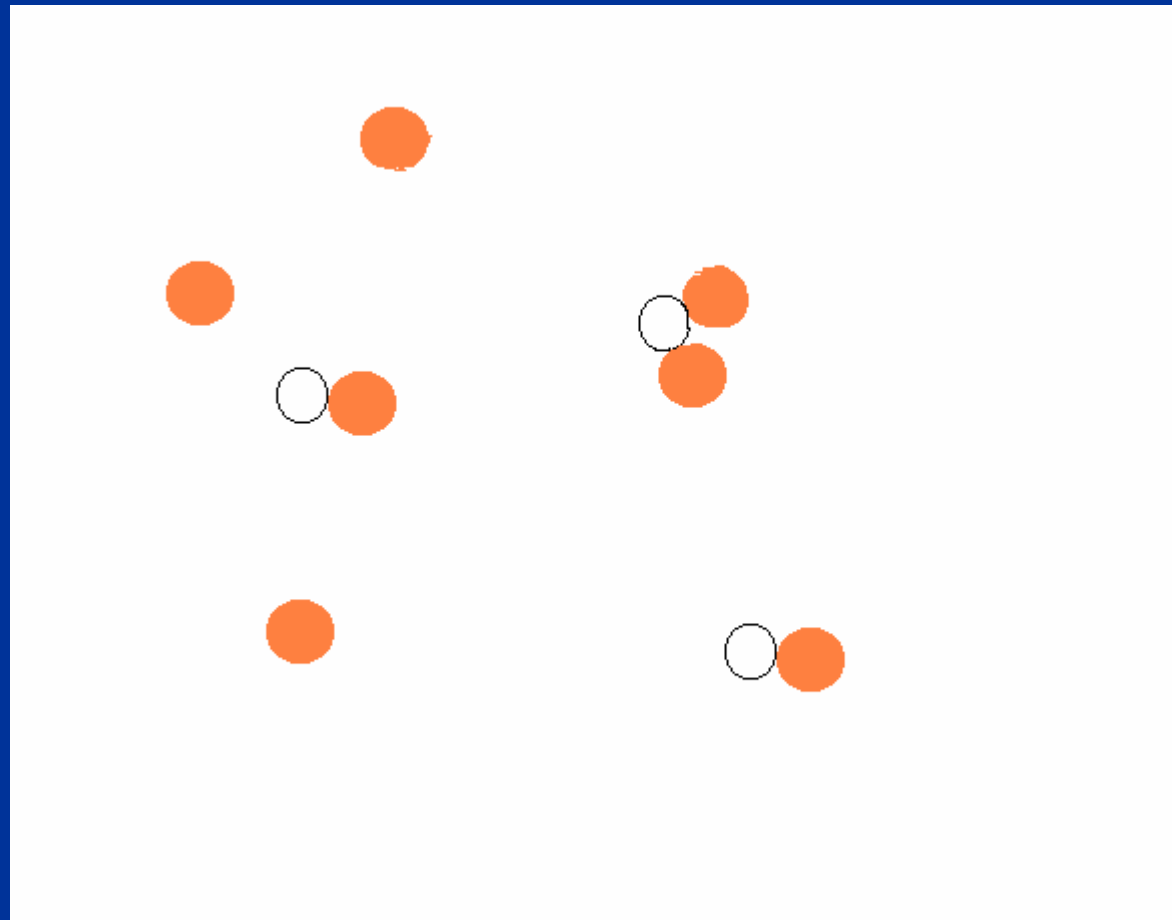
Imunomagnetická separace



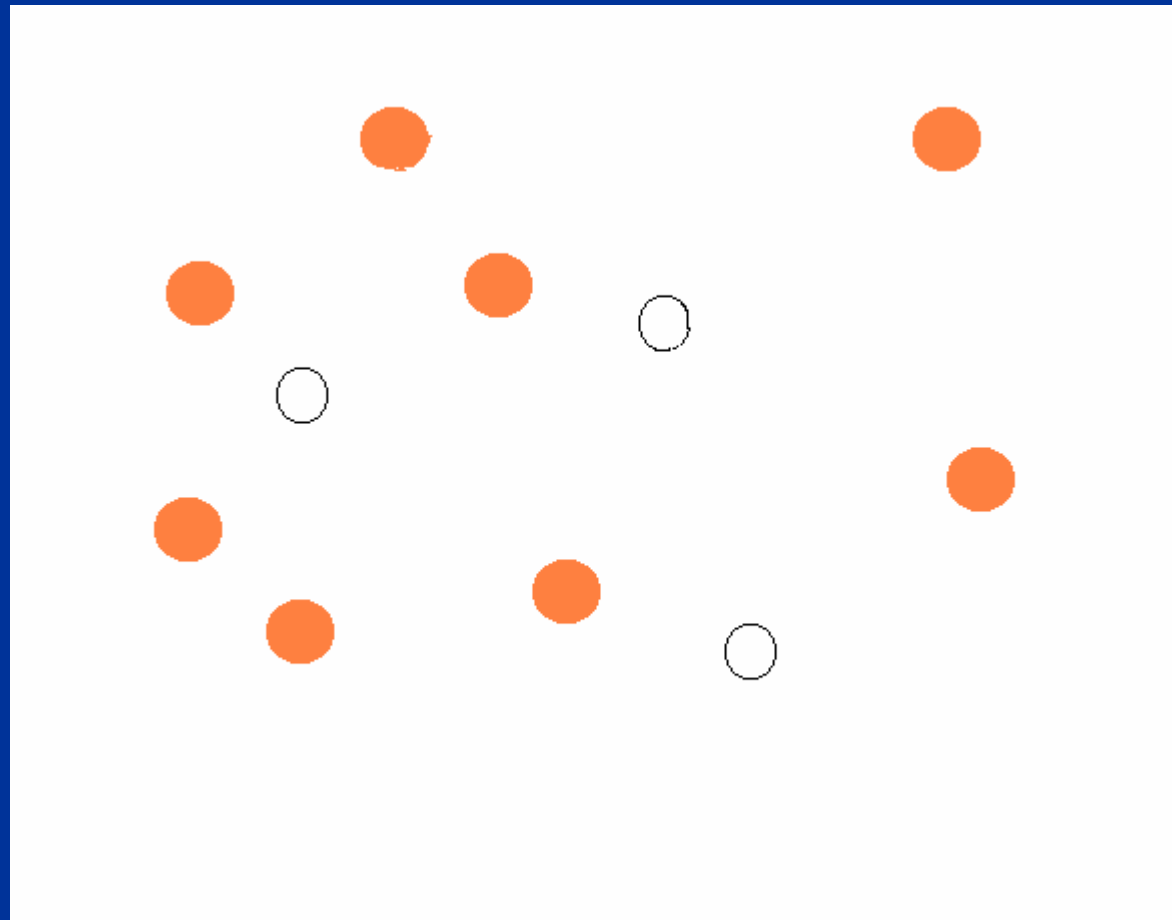
Imunomagnetická separace



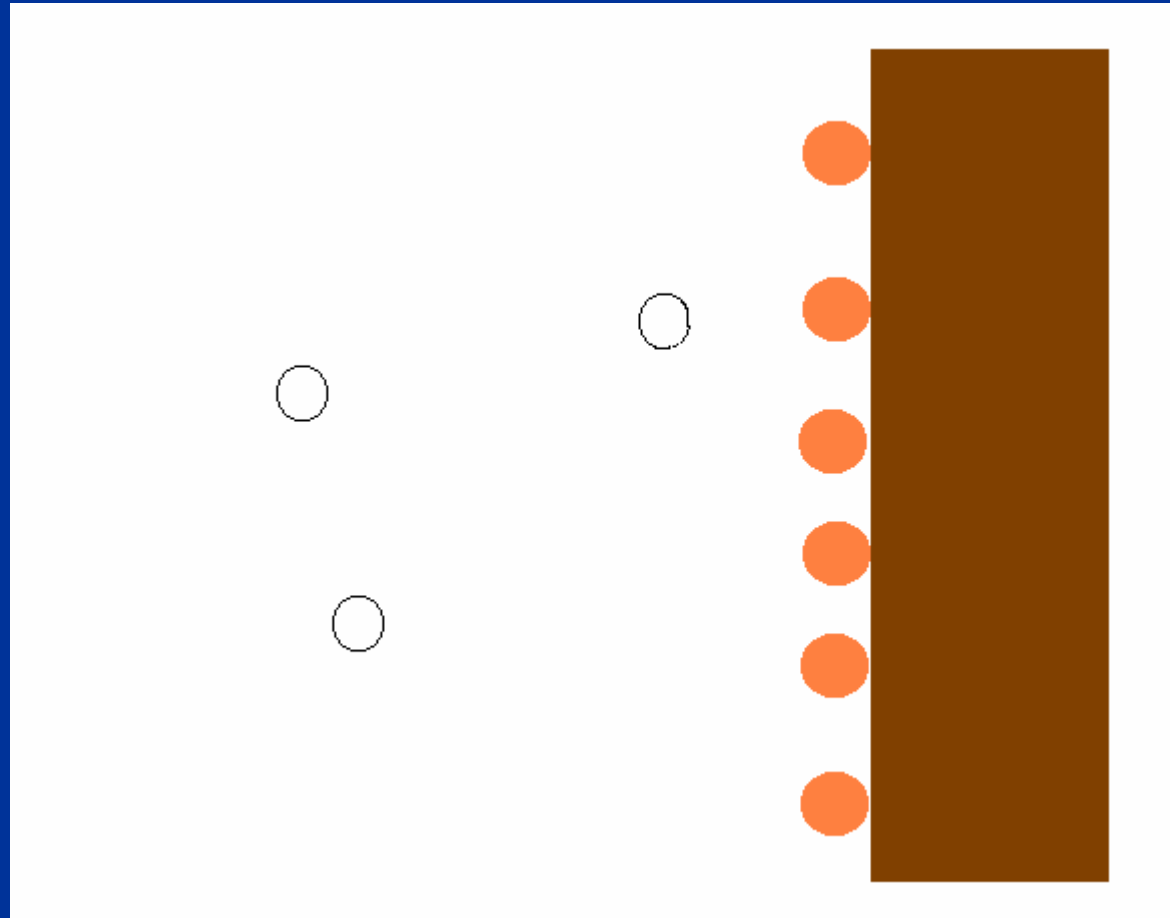
Imunomagnetická separace



Imunomagnetická separace



Imunomagnetická separace



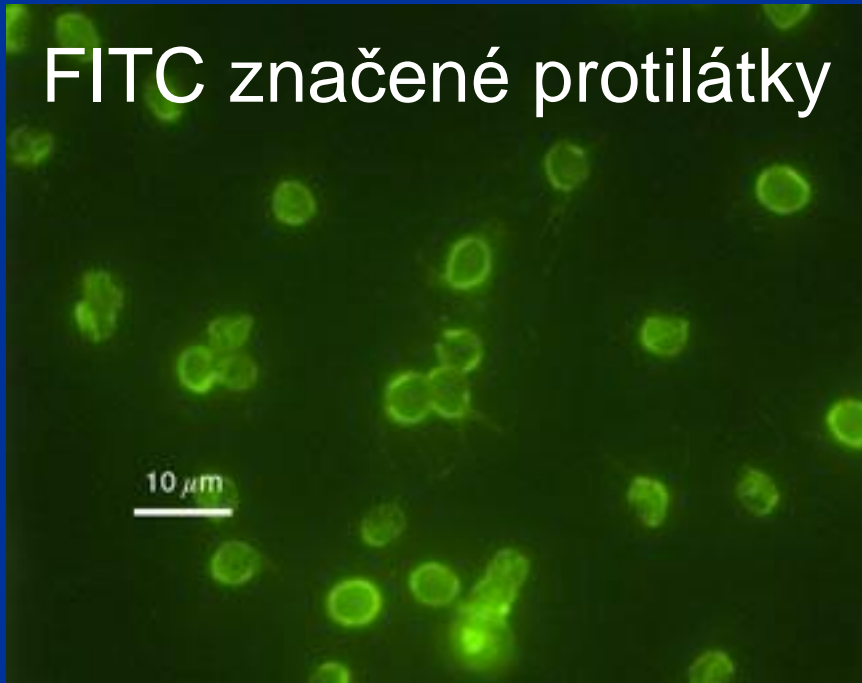
Detekce

nutnost správně identifikovat oocysty

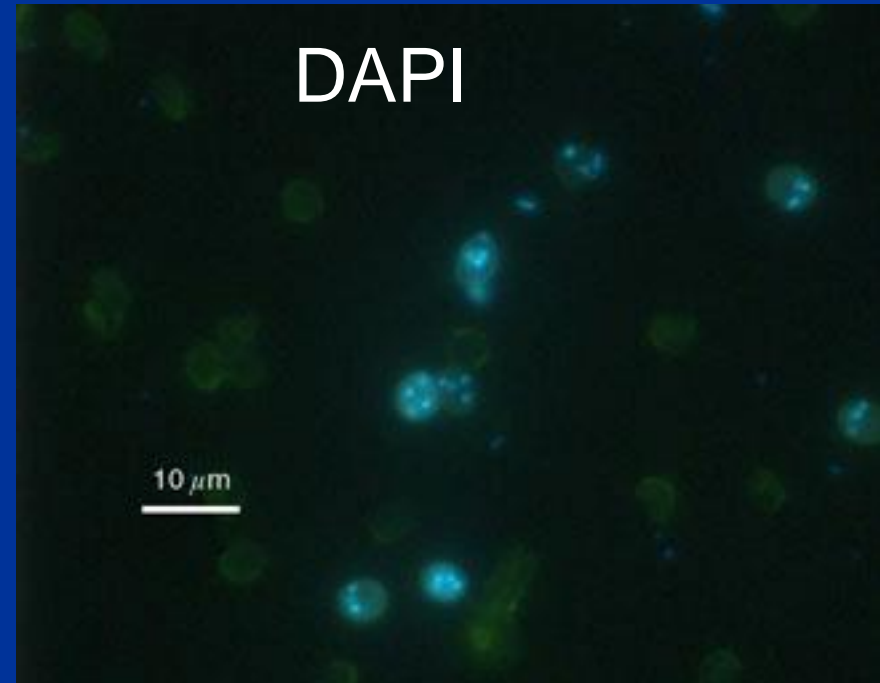
Ø mikroskopicky (imunofluorescence FITC značené protilátky; DAPI; pozorování pomocí DIC kontrastu) – výsledkem pouze *Cryptosporidium* sp.

Ø molekulárně biologické metody

FITC značené protilátky



DAPI



DIC kontrast



Cryptosporidium

zdroj http://www.epa.gov/nerlcwww/cpt_seq1.htm

Zajištění jakosti

- Ø časté problémy s výtěžností, špatná opakovatelnost a reprodukovatelnost, mnoho falešně negativních výsledků
- Ø normované metody mají přísné podmínky pro zajištění jakosti (např. opakované testy výtěžnosti, slepá stanovení ...)



Životaschopnost

Ø uvedené normované metody
nevypovídají o životaschopnosti oocyst



Indikátory a zástupná stanovení



Běžné bakteriální indikátory fekálního znečištění

- Ø výrazně citlivější k vlivům prostředí než trvalá stadia parazitických prvoků
- Ø nejsou vhodné především pro pitnou vodu zabezpečenou desinfekcí

Clostridium perfringens

- Ø velmi odolné spory – vlastnosti podobné trvalým stádiím parazitických prvoků
- Ø korelace s výskytem prvoků vykazují jen některé studie
- Ø vhodné k posouzení účinnosti vodárenské úpravy



Další ukazatele

Øzákal

Øpočítání částic

Ømikroskopický obraz

Ø???



Kontrola pitné vody

Anglie a Wales

Ø kontinuální monitoring oocyst na výstupu z rizikových vodáren

Anglie výsledky 2000 – 2003:

rok	počet vzorků	% pozitivních	počet nad limitem	% míst
2000	36 916	7,46	7	57,4
2001	51 168	3,28	0	70,5
2002	47 049	1,88	0	68,5
2003	47 529	1,13	0	54,3



Nový Zéland

Ø kontinuální měření zákalu nebo počítání částic pro menší vodárny i mikroskopicky

zdroj: Drinking-Water Standards for New Zealand 2000

EU

Ø *Clostridium perfringens*

Ø Německo – klasické fekální indikátory na výstupu z vodárny bez dezinfekce

zdroj: CD 98/83EC a Umweltbundesamtes (2001): Empfehlung zur Vermeidung von Kontaminationen des Trinkwasser mit Parasiten. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz 44/4: 406-408



Děkuji za pozornost