

Renata Matuszewska, Maciej Szczotko, Marta Bartosik, Bożena Krogulska

Występowanie pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* w wodzie powierzchniowej ujmowanej przez wybrane zakłady wodociągowe

Rola wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi w przenoszeniu pierwotniaków pasożytniczych z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* jest dobrze udokumentowana [1–4]. W aspekcie epidemiologicznym istotne jest, że formy przetrwalnikowe tych pierwotniaków charakteryzują się długotrwałym utrzymywaniem w środowisku, dużą opornością na czynniki zewnętrzne, w tym procesy dezynfekcji, jak również wysoką zdolnością do infekcji, przy małej dawce zakaźnej [1]. Pierwotniaki pasożytnicze określane są jako organizmy zdolne do przekraczania tzw. systemu wielu barier zabezpieczających wodę przeznaczoną do spożycia. Dlatego już w latach 90. ubiegłego wieku w krajach Europy Zachodniej zaczęto podkreślać, że organizmy te powinny być istotnym elementem kontroli i nadzoru jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, obok takich mikroorganizmów wskaźnikowych, jak bakterie grupy coli, *Escherichia coli*, paciorkowce kałowe czy klostridia redukujące siarczyny. Znalazło to odzwierciedlenie w dyrektywie UE 98/83/EC, a w Polsce w kolejnych rozporządzeniach Ministra Zdrowia dotyczących jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi [5–7]. Dokumenty te wskazują na potrzebę wykrywania *Cryptosporidium* sp. i *Giardia* sp. w wodzie pochodzącej z ujęć powierzchniowych lub mieszanych, w przypadku potwierdzenia obecności w nich *Clostridium perfringens*.

Celem przeprowadzonych badań było określenie przypadków występowania pierwotniaków pasożytniczych z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* w ujmowanej wodzie powierzchniowej oraz przed i po procesie filtracji. W celu oceny jakości bakteriologicznej wody oznaczono liczbę bakterii grupy coli, *Escherichia coli*, paciorkowców kałowych oraz przetrwalników klostridiów redukujących siarczyny.

Materiały i metody

Próbki wody do badań pobrano równolegle z sześciu ujęć wody powierzchniowej oraz w zakładach wodociągowych przed i po procesie filtracji pospiesznej. Badaniami objęto 27 próbek wody. Wszystkie oznaczenia wykonano w Laboratorium Zakładu Higieny Komunalnej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie. Badania obecności oocyst i cyst pierwotniaków pasożytniczych z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia* wykonano zgodnie z procedurą ZHK NIZP-PZH,

opracowaną na podstawie normy ISO 15553:2006 [8]. Do badań pobrano próbki wody (20 dm³) bezpośrednio z ujęć oraz próbki wody przed i po procesie filtracji pospiesznej (odpowiednio 20 dm³ i 40 dm³). Wykrywanie pierwotniaków pasożytniczych w próbkach wody przebiegało w następującej kolejności: zagęszczenie próbek, separacja immunomagnetyczna (IMS), barwienie preparatów i następnie obserwacje pod mikroskopem epifluorescencyjnym. Każda próbka wody została zagęszczona przez filtrację w automatycznej stacji płuczącej Filta-Max xpress (IDEXX). Oocysty *Cryptosporidium* sp. i cysty *Giardia* sp. wyodrębniono metodą separacji immunomagnetycznej przy użyciu testu GC-Combo (Dynal Biotech ASA). Potwierdzenie obecności i określenie liczby pierwotniaków dokonano w oparciu o obserwacje mikroskopowe preparatów barwionych:

- FITC: znakowanie struktur zewnętrznych oocyt/cyst, obserwacja przy długości fali 480 nm,
- DAPI: znakowanie materiału jądrowego, obserwacja przy długości fali 350 nm (UV).

W próbkach wody pobranej do badań na obecność pierwotniaków pasożytniczych oznaczono równolegle metodą filtracji membranowej liczbę bakterii grupy coli, *E. coli* na podłożu Endo Les wg procedury własnej, paciorkowców kałowych na podłożu Slanetz Bartley wg PN-EN ISO 7899-2:2004 oraz przetrwalników klostridiów redukujących siarczyny na podłożu TSC wg PN-EN 2646-2:2001, przy czym próbki do oznaczania przetrwalników klostridiów podgrzewano w temperaturze 65°C przez 15 min [9–11].

Wyniki badań

Obecność oocyst *Cryptosporidium* sp. i cyst *Giardia* sp. wykryto w próbkach wody z ujęć na Wiśle (Płock, Warszawa/Wodociąg Centralny (III), Warszawa/Wodociąg Praski (II)) oraz na Zalewie Zegrzyńskim (Warszawa/Wodociąg Północny (I)). W próbkach wody ujmowanej z Wisły w Warszawie (Wodociąg Centralny, Wodociąg Praski) stwierdzono oocysty *Cryptosporidium* sp. w liczbie od 0,05 do 0,3 w 1 dm³, natomiast w Płocku – 0,3 w 1 dm³. W wodzie z ujęcia na Zalewie Zegrzyńskim (I) liczba oocyst wykrytych pierwotniaków wynosiła 0,3 w 1 dm³. W przypadku *Giardia* sp., w próbkach pobranych z Wisły cysty wykryto w nieco większej liczbie – od 0,3 (Wodociąg Praski (II)) do 3,55 (Wodociąg Centralny (III)) oraz 1,95 w 1 dm³ na ujęciu Wodociągów Płockich. W próbkach wody z Zalewu Zegrzyńskiego cysty *Giardia* sp. stwierdzono w liczbie od 0,35 do 0,4 w 1 dm³. We wszystkich próbkach wody

Dr R. Matuszewska, mgr M. Szczotko, mgr M. Bartosik, dr B. Krogulska: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, Zakład Higieny Komunalnej, ul. Chocimska 24, 00–791 Warszawa
rmatuszewska@pzh.gov.pl, szczotko@pzh.gov.pl

Tabela 1. Liczba oocyst/cyst pierwotniaków pasożytniczych oraz bakterii w próbkach wody powierzchniowej
 Table 1. Number of parasite protozoan oocysts/cysts and bacterial counts in surface water samples

Ujęcie/miasto	Liczba oocyst/cyst pierwotniaków w 1 dm ³		Liczba klostridiów redukujących siarczyny (spory) jtk/100 cm ³	Liczba bakterii jtk/100 cm ³		
	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Giardia</i> sp.		bakterie grupy coli	<i>E. coli</i>	enterokoki kałowe
Zalew Zegrzyński/Warszawa Wodociąg Północny (I)	0,3	0,35	540	0	0	5
	0	0,4	–	0	0	30
Wisła/Warszawa Wodociąg Praski (II)	0	0,65	400	0	0	25
	0	0,3	10	0	0	700
Wisła/Warszawa Wodociąg Centralny (III)	0,3	3,55	1300	900	600	50
	0,05	0,5	230	0	0	20
Pilica/Tomaszów Mazowiecki	0	0	10	18	9	1
Supraśl/ Białystok	0	0	79	34	0	320
Wisła/Płock	0,3	1,95	80	600	0	70

pobranymi z Wisły obecne były przetrwalniki klostridiów redukujących siarczyny w liczbie od 10 jtk/100 cm³ do 10³ jtk/100 cm³ w Warszawie oraz 80 jtk/100 cm³ w Płocku. W przypadku próbek wody pobranych z ujęć na Pilicy (Tomaszów Mazowiecki) i Supraśli (Białystok) przeprowadzone badania nie wykazały obecności pierwotniaków pasożytniczych z rodzajów *Cryptosporidium* sp. i *Giardia* sp. W próbkach wody pobranych z tych ujęć wykryto natomiast przetrwalniki klostridiów redukujących siarczyny w liczbie odpowiednio 10 jtk/100 cm³ i 79 jtk/100 cm³.

Spośród bakterii wskaźnikowych we wszystkich próbkach pobranych z ujęć wody obecne były paciorkowce kałowe w liczbie od 1 jtk/100 cm³ do 7·10² jtk/100 cm³. Bakterie grupy coli wykryto w próbkach pobranych z Wisły w liczbie 6·10² jtk/100 cm³ (Warszawa) i 9·10² jtk/100 cm³ (Płock) oraz w próbkach pobranych z Pilicy i Supraśli w liczbie odpowiednio 18 jtk/100 cm³ i 34 jtk/100 cm³. Obecność *E. coli* potwierdzono w dwóch próbkach wody, w których były obecne bakterie grupy coli, a oznaczona liczba tych pałeczek wynosiła 9 jtk/100 cm³ (Pilica) i 6·10² jtk/100 cm³ (Wisła). Pełne wyniki oznaczenia liczby pierwotniaków pasożytniczych oraz badań bakteriologicznych próbek pochodzących z analizowanych ujęć powierzchniowych wody przeznaczonej do spożycia przedstawiono w tabeli 1.

W przypadku próbek wody wstępnie oczyszczonej przed filtracją pospieszną w żadnym z zakładów wodociągowych w Warszawie i Płocku nie stwierdzono obecności oocyst *Cryptosporidium* sp. i cyst *Giardia* sp. Probki wody pobrane przed i po filtracji w zakładach wodociągowych w Warszawie były wolne od bakterii grupy coli i *E. coli*, lecz wykryto w nich niewielką liczbę przetrwalników klostridiów redukujących siarczyny (1÷4 jtk/100 cm³), przy czym po filtracji pospiesznej zostały one wykryte tylko w jednym przypadku (1 jtk/100 cm³), w Wodociągu Północnym (I), ujmującym wodę z Zalewu Zegrzyńskiego. Z kolei w próbkach wody z Wodociągów Płockich, zarówno przed, jak i po filtracji, stwierdzono obecność w niewielkiej liczbie bakterii wskaźnikowych – bakterie grupy coli (6÷14 jtk/100 cm³), *E. coli* (6÷11 jtk/100 cm³), paciorkowce kałowe (1 jtk/100 cm³). W tych próbkach wody nie wykryto

przetrwalników klostridiów redukujących siarczyny. Badania próbek pobranych w zakładach wodociągowych w Tomaszowie Mazowieckim i Białymstoku przed i po filtracji pospiesznych nie wykazały obecności pierwotniaków pasożytniczych z rodzaju *Cryptosporidium* sp. i *Giardia* sp. oraz bakterii wskaźnikowych i przetrwalników klostridiów redukujących siarczyny.

Dyskusja wyników

Wyniki badań potwierdziły obecność w ujmowanej wodzie powierzchniowej form przetrwalników pierwotniaków pasożytniczych. Zanieczyszczenie oocystami *Cryptosporidium* sp. było stosunkowo nieduże, od 0,05 do 0,3 w 1 dm³ (śr. 0,23), w przeciwieństwie do wykrytej liczby cyst *Giardia* sp., która była większa – od 0,3 do 3,55 w 1 dm³ (śr. 1,1). Najwyższą liczbę oocyst (0,3) i cyst (3,55) pierwotniaków pasożytniczych w 1 dm³ odnotowano w próbkach pobranych podczas wysokiego stanu wody w ujęciu. W wodach powierzchniowych, poza ośrodkami miejskimi i terenami rolniczymi, liczba oocyst *Cryptosporidium* sp. zazwyczaj wynosi średnio 0,001 w 1 dm³ [1]. Na obszarach, gdzie znajdują się ośrodki miejskie lub prowadzona jest intensywna działalność rolnicza, szacunkowa liczba wykrywanych na ujęciu oocyst tych pierwotniaków może wahać się od 0,1 do 10 w 1 dm³, przy jednocześnie wysokiej liczbie bakterii kałowych (*E. coli* ok. 10²÷10³ jtk/100 cm³) [1]. Potwierdzają to badania przeprowadzone w innych krajach, gdzie odnotowano zanieczyszczenie oocystami *Cryptosporidium* sp. w liczbie 0,04÷7,3 w 1 dm³ (Francja) i 0,6÷13 w 1 dm³ (Holandia) [1]. W próbkach wody pobranych przed i po filtracji pospiesznej nie wykryto obecności pierwotniaków z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia*, co może świadczyć o skuteczności procesu filtracji. Mogło być to też spowodowane zbyt małą objętością badanych próbek (20÷40 dm³). Jak wskazują doświadczenia z innych krajów, próbki wody oczyszczonej miały objętość min. 100 dm³, a w niektórych krajach nawet 1 m³ [1]. Stąd doniesienia innych autorów potwierdzają obecność pierwotniaków pasożytniczych w badanych próbkach wody, np. oocysty *Cryptosporidium* były wykrywane w wodzie oczyszczonej

m.in. w Niemczech ($0,0013 \pm 0,21$ w 1 dm^3), Wielkiej Brytanii ($0,007 \pm 1,36$ w 1 dm^3), Szkocji ($0,007 \pm 0,7$ w 1 dm^3) i Hiszpanii ($0 \pm 0,02$ w 1 dm^3) [1, 13, 14].

Dane literaturowe wskazują na istotne znaczenie pierwotniaków pasożytniczych, szczególnie z rodzaju *Cryptosporidium*, jako organizmów, które mogą mieć zastosowanie do oceny jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, podobnie jak bakterie wskaźnikowe [1, 4, 14–16]. Niektóre prace sugerują również, że zachodzi korelacja między występowaniem bakterii wskaźnikowych a obecnością tych pierwotniaków w wodzie [4, 14–18]. Badania przeprowadzone przez Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny wykazały, że technologia oczyszczania wody stosowana w analizowanych zakładach wodociągowych, w tym filtracja pospieszna, stanowiła skuteczną barierę zabezpieczającą wodę przed pierwotniakami pasożytniczymi oraz przetrwalnikami beztlenowców z rodzaju *Clostridium*, lecz nie zawsze skuteczną wobec obecnych w wodzie bakterii wskaźnikowych.

Podsumowanie

W celu zwiększenia bezpieczeństwa zdrowotnego, badania na obecność pierwotniaków pasożytniczych w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi (z ujęć powierzchniowych lub mieszanych), szczególnie w przypadku wykrycia *Clostridium perfringens*, powinny być rutynowo wykonane zgodnie z obowiązującymi przepisami. Przeprowadzane do tej pory badania wykonywane były w ramach prac naukowych, a uzyskane dane są stosunkowo nieliczne. Uniemożliwia to pełną ocenę zagrożenia i ryzyka wystąpienia zachorowań powodowanych przez pierwotniaki z rodzaju *Cryptosporidium* i *Giardia*. Badania w tym zakresie powinny być kontynuowane.

LITERATURA

1. Risk Assessment of *Cryptosporidium* in Drinking Water. Public Health and Environment Water, Sanitation, Hygiene & Health. WHO 2009.
2. P.R. HUNTER: Waterborne Disease. Epidemiology and Ecology. John Wiley & Sons, Chichester 1997.
3. B. TOCZYŁOWSKA: Rola wskaźników pomocniczych w ocenie zagrożenia zdrowia ludzi obecnością oocyst *Cryptosporidium* w wodzie. *Ochrona Środowiska* 2007, vol. 29, nr 3, ss. 25–28).
4. Guidelines for Drinking-water Quality. WHO 2006, 1st Addendum to 3rd ed., Vol. 1.
5. K. SZATKIEWICZ: Rewizja dyrektywy 98/83/WE w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, dotycząca oceny zagrożeń i zarządzania ryzykiem. *Ochrona Środowiska* 2009, vol. 31, nr 3, ss. 41–44.
6. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz. U. nr 61, poz. 417.
7. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 10 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz. U. nr 72, poz. 466.
8. ISO 15553:2006 Water quality – Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water.
9. PN-EN ISO 7899-2:2004 Jakość wody. Wykrywanie i oznaczanie ilościowe enterokoków kałowych. Część 2: Metoda filtracji membranowej.
10. PN-EN 2646-2:2001 Wykrywanie i oznaczanie ilościowe przetrwalników beztlenowców redukujących siarczyny (clostridia). Część 1: Metoda filtracji membranowej.
11. PN ISO 9308-1:1999 Jakość wody. Wykrywanie i oznaczanie ilościowe *Escherichia coli* i bakterii z grupy coli – część 1: Metoda filtracji membranowej.
12. R.S. BARWICK, D.A. LEVY, G.F. CRAUN, M.J. BEACH, R.L. CALDERON: Surveillance of waterborne disease outbreaks – United States, 1997–1998. *MMWR Surveillance Summaries* 2000, Vol. 49, pp. 1–35.
13. D. DRURY: Data analysis of the UK CryptoReg data. Proc. Intern. Cryptosporidium and Giardia Conf. Amsterdam 2004.
14. H.C. SMITH, A.M. GRIMASON: *Giardia* and *Cryptosporidium* in water and wastewater. In: D. MARA, N. HORAN [Eds.]: The Handbook of Water and Wastewater Microbiology. Elsevier Science Limited, Oxford 2003.
15. A. HORMAN, R. RIMHANEN-FINNE, L. MAUNULA, C.H. BONSDORFF, N. TORVELA, A. HEIKINHEIMO, M.L. HANNINEN: *Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., Noroviruses and indicators organisms in surface water in Southwestern Finland 2000–2001. *Applied and Environmental Microbiology* 2004, Vol. 70, No. 1, pp. 87–95.
16. B. KOŁWZAN: Zastosowanie czujników biologicznych (biosensorów) do oceny jakości wody. *Ochrona Środowiska* 2009, Vol. 31, nr 4, ss. 3–14.
17. V.J. HARWOOD, A.D. LEVINE, T.M. SCOTT, V. CHIVUKULA, J. LUKASIK, S.R. FARRAH, J.B. ROSE: Validity of the indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Applied and Environmental Microbiology* 2005, Vol. 71, No. 6, pp. 3163–3170.
18. P. PAYMENT, E. FRANCO: *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. *Applied and Environmental Microbiology* 1993, Vol. 59, No. 8, pp. 2418–2424.

Matuszewska, R., Szczotko, M., Bartosik, M., Krogulska, B. Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the Surface Water Intakes of Selected Waterworks. *Ochrona Środowiska* 2011, Vol. 33, No. 3, pp. 67–69.

Abstract: Parasite protozoa of the genera *Cryptosporidium* and *Giardia* play an equally significant part in controlling the quality of the water intended for human consumption as do such indicator organisms as *Escherichia coli*, coliform bacteria, fecal streptococci and anaerobic sulfite-reducing clostridia. The aim of this study was to assess the occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the surface water taken in by the waterworks of Warsaw, Plock and Białystok. Water was sampled simultaneously at the intake, before rapid filtration and after rapid filtration. Simultaneously were also determined the counts of indicator

bacteria and those of the sulfite-reducing clostridia spores. It has been demonstrated that water contamination with *Cryptosporidium* sp. oocysts was relatively low (0.23 per 1 dm^3 on average) in contrast to the contamination by *Giardia* sp. cysts (1.1 per 1 dm^3). Fecal streptococci and spores of sulfite-reducing clostridia were detected in all of the water samples, whereas the presence of coliform bacteria and *E. coli* was determined only in some of them. The results of the study have revealed that the treatment trains used in the investigated waterworks, and specifically the rapid filtration processes, provide a kind of 'safety fence' protecting against parasite protozoa and spores of sulfite-reducing clostridia.

Keywords: Surface water, parasite protozoa, *Cryptosporidium* oocysts, *Giardia* cysts, water treatment, filtration.