



Предпосылки внедрения в широкую практику современных методов

Санитарно-паразитологические аспекты проведения контроля качества воды

Проблема паразитологического контроля качества воды приобрела особую актуальность в 80-х годах прошлого века в связи с участившимися в США вспышками лямблиоза водного происхождения с доказанной ролью систем водоснабжения в качестве передаточного звена (Craun, 1984). Позднее, в связи с распространением СПИДа, первоочередное значение для санитарно-паразитологической безопасности воды стало придаваться ооцистам криптоспоридий. Лямблиоз и криптоспоридиоз считаются оппортунистическими заболеваниями, чаще встречающимися у людей с ослабленным или несформированным (у детей) иммунитетом. Но на сегодняшний день накоплен фактический материал, свидетельствующий, что этими заболеваниями поражаются и люди с нормальным иммунитетом, и что решающую роль в возникновении вспышек этих болезней могут играть системы водоснабжения. Примером может служить вспышка криптоспоридиоза в 1993 в г. Милуоки (США), вызванная сбоем в работе станций водоподготовки, когда заболело 400 тыс. человек.

В России заболеваемость лямблиозом регистрируется официально с 1991 года, а представительные статистические данные о заболеваемости криптоспоридиозом отсутствуют, опубликованы единичные работы по локальным обследованиям зараженности населения (Лысенко, Лавдовская, 1992). По данным официальной статистики на 2006 год, число регистрируемых случаев лямблиоза возросло на 85,6% (84,1 на 100 тыс. населения) и не имеет тенденции к снижению. Среди заболевших более 60% составляют дети, показатели заболеваемости которых с 1991 г. возросли в 2,5 раза и составили в 2006 г. 355,8 на 100 тыс. детей до 14 лет.

Уникальные результаты исследования водоемов Московской области методом EPA (EPA/600/R-95/178), а затем ISO 15553, проводимого в соответствии с программой ОАО «Мосводоканал» в Аналитическом Центре контроля качества воды ЗАО «РОСА» с 1997 года (Ларин, Кашкарова, 2000; Ларин, 2002; Larin, Kashkarova, 2002) и охватывающего данные анализа свыше 3000 проб, регулярно отбира-

Внедрение в России в широкую практику современных методов санитарно-паразитологического контроля качества воды тормозится отсутствием отечественных иммунофлюоресцентных и иммуномагнитных диагностикумов. Кроме того, нынешний уровень российской нормативной базы, регламентирующей санитарно-паразитологический контроль качества воды, опережает состояние соответствующей методической базы.

емых в постоянных точках отбора, являются локальными и недостаточными для целостной оценки загрязненности поверхностных водоемов на обширной и разнообразной в географическом отношении территории Российской Федерации. К сожалению, эти данные невозможно сопоставить с аналогичными, т.к. в РФ исследование проб воды на цисты лямблий и ооцисты криптоспоридий иммунофлюоресцентным методом, кроме ЗАО «РОСА», проводились непродолжительное время Центром госсанэпиднадзора в г. Череповце, в публикации представлены результаты исследования 21 пробы (Новосильцев с соавт., 2000).

Простейшие родов *Giardia* (*Lambliia* - в отечественной таксономической номенклатуре) и *Cryptosporidium* обладают рядом особенностей, делающих важным водный путь передачи вызываемых ими заболеваний и актуальным контроль за содержанием их цист в воде:

- всеветная распространенность;
- широкий видовой спектр млекопитающих-хозяев;
- многочисленность источников загрязнения водоемов цистами и ооцистами;
- высокая инфекционность и низкая заражающая доза;
- микроскопические размеры цист (10x12 мкм) и ооцист (4-6 мкм);
- длительность выживания в водной среде, особенно при низких температурах (до трех месяцев при 4-8°C);

- высокая устойчивость к нормативным технологиям дезинфекции при питьевой водоподготовке. [1]

Знание основных мер профилактики лямблиоза и криптоспоридиоза может предотвратить заражение этой инвазией многих групп людей: персонал детских учреждений и самих детей, туристов и путешественников. Рекомендации по профилактике основываются главным образом на пе-

рерыве водного и пищевого путей передачи возбудителя:

- соблюдение личной гигиены;
- употребление кипяченой воды, т.к. нагрев воды до 55°C вызывает гибель лямблий через 5 минут, а нагрев до 72-100°C в течение минуты вызывает гибель криптоспоридий;
- не рекомендуется пить воду из рек или озер и заглатывать воду при купании в любых водоемах, в т.ч. бассейнах;
- людям с выраженным иммунодефицитом рекомендуется использовать бутилированную воду;
- желательно воздерживаться от употребления в пищу сырого непастеризованного молока;
- необходимо тщательно мыть овощи и фрукты;
- санитарное просвещение населения имеет немаловажную роль в профилактике паразитарных болезней;
- применение эффективных технологий при очистке питьевой воды.

Так как в настоящее время не существует опубликованных отечественных работ, позволяющих количественно оценить значимость водного пути передачи лямблиоза и эффективность применяемых технологий питьевой водоподготовки в отношении цист патогенных кишечных простейших, в данной статье использованы разделы комплексных обзоров проблем управления концентрациями цист лямблий в водных запасах (W.Jakubowski (1990), Craun с соавт. (1998), связанные с оценкой эффективности различных способов питьевой водоподготовки в отношении удаления и инактивации цист лямблий.

Очевидно, что наиболее эффективным средством гарантий микробиологической безопасности общественных систем водоснабжения является использование комбинации охраны водосборных территорий поверхностных водоисточников и водоносных горизонтов подземных водо-



источников в дополнение к фильтрации, дезинфекции и защите целостности разводящей сети (Geldreich and Craun, 1996).

Большинство вспышек лямблиоза водного происхождения зарегистрированы в системах водоснабжения из поверхностных водоисточников без этапа фильтрации или в системах водоснабжения без этапа фильтрации из подземных источников, находящихся под воздействием поверхностных вод или сбросов нечистот. Этот факт подчеркивает необходимость этапа фильтрации в технологии питьевой водоподготовки. Но вспышки также зарегистрированы и в системах с профильтрованной водой, и это указывает на необходимость правильного конструирования и оптимизации процесса фильтрации, а также часто мониторинга эффективности водоподготовки. Станции водоподготовки, применяющие как традиционную, так и прямую фильтрацию, должны быть спроектированы с правильной предварительной обработкой воды, обеспечивающей адекватную коагуляцию. Для некоторых типов водоисточников необходим этап седиментации, чтобы эффективно удалить цисты. На некоторых станциях водоподготовки с фильтрацией в случаях, когда процесс коагуляции не был оптимизирован, эффективность очистки от цист была плохой, хотя на выходе достигались относительно низкие значения мутности. В профильтро-

ванных оборотных водах были обнаружены высокие концентрации цист, и данный потенциальный источник загрязнения следует учитывать до сброса промывных вод в окружающую среду или возвращения их в начало цикла водоподготовки.

Обычно применяемые на станциях водоподготовки технологии фильтрации могут быть спроектированы и управляться таким образом, чтобы удерживать 99% и более цист лямблий. Проведенные исследования показывают, что традиционная и прямая фильтрация могут удалять цисты лямблий при условии правильной коагуляции. Наивысшие эффективности очистки наблюдались на пилотных станциях и системах водоподготовки с оптимизированной коагуляцией, достигавших очень низких значений мутности на выходе.

Дезинфекция является важной частью концепции множественных барьеров питьевой водоподготовки. Дезинфекция ультрафиолетовым облучением и химические дезинфектанты (хлор, диоксид хлора, хлорамины, озон) способны уменьшать концентрации цист, однако эффективность дезинфекции зависит от температуры и pH воды, внесенной и остаточной концентрации дезинфектанта и времени контакта, присутствия частиц (взвесей), которые могут защищать цисты от контакта с дезинфектантом, а также органических веществ, потребляющих дезинфектант. Филтра-

ция может сделать дезинфекцию более эффективной, уменьшая потребление дезинфектанта и количество частиц, снижающих эффективность дезинфекции.

Дезинфекция также способна обеспечить инактивацию свыше 99% цист лямблий, но существующие нормативы содержания дезинфектантов и побочных продуктов дезинфекции в воде централизованных систем водоснабжения могут ограничивать возможность увеличения концентрации и времени контакта любого химического дезинфектанта. В тех случаях, когда для соответствия нормативам содержания дезинфектантов и побочных продуктов дезинфекции требуется применение пониженных концентраций, для защиты от передачи цист лямблий водой необходимо использовать фильтрацию и дезинфекцию вместе.

Цисты лямблий успешно инактивируются озоном (Wolfe et al., 1989; Jakubowski, 1990; Labatiuk et al., 1991; Finch et al., 1993; Owens et al., 1994). Было обнаружено, что озон является более эффективным средством инактивации, чем хлор, как в отношении выделенных от человека, так и полученных от мышей цист, и меньше зависит от температуры воды.

Информация, полученная в результате лабораторных, пилотных и полномасштабных исследований на станциях питьевой водоподготовки, показывает, что цисты лямблий могут

■ Таблица 1. Эффективность очистки от цист лямблий водоподготовки с различными технологиями фильтрации*

Тип фильтрации	Масштаб эксперимента	Эффективность очистки (lg)	Ссылка
Традиционная	Пилотные исследования	3,4 - 5,1	Patania et al., 1995
Традиционная	Пилотные исследования	3,4	Nieminski and Ongert, 1995
Традиционная	Пилотные исследования	2,7 - > 4,5 ^a	Swertfeger et al., 1999
Традиционная	Полномасштабные исследования	3,3	Nieminski and Ongert, 1995
Традиционная	Полевые исследования	2 - 2,5	LeChevallier et al., 1991b
Традиционная	Полевые исследования	> 2,2 - > 2,8	LeChevallier and Norton, 1992
Традиционная	Полевые исследования	> 5	Payment and Franco, 1993
Традиционная	Полевые исследования	1,5 - 1,7	States et al., 1995, 1997
Традиционная	Полевые исследования	1,5	Kelley et al., 1995
Прямая	Пилотные исследования	3,1 - 3,6	Ongert and Pecoraro, 1995
Прямая	Пилотные исследования	1,5 - 4,8	Patania et al., 1995
Прямая	Пилотные исследования	3,3	Nieminski and Ongert, 1995
Прямая	Полномасштабные исследования	3,9	Nieminski and Ongert, 1995
Медленная песчаная	Пилотные исследования	> 3 - 4	Jakubowski, 1990
Медленная песчаная	Пилотные исследования	2,8 - > 4	Schuler et al., 1991
Медленная песчаная	Полевые исследования	1 - 2	Fogel et al., 1993
Диатомитовая	Пилотные исследования	> 2 - > 3	Jakubowski, 1990
Диатомитовая	Пилотные исследования	> 3	Schuler et al., 1991
Мембранная	Пилотные исследования	6 - 7	Jacangelo et al., 1995
Мембранная	Пилотные исследования	4,9 - 5,8	States et al., 2000

* эффективность очистки или инактивации представлена в десятичных логарифмах очистки или инактивации цист лямблий. Например, 1 lg очистки или инактивации означает 90 % уменьшение уровня содержания цист, 2 lg очистки означает, что удалено 99 % цист, 3 lg очистки означает удаление 99,9% цист.

^a Эффективность очистки определена только для этапа фильтрации



Таблица 2. Значения времени контакта - Ct, соответствующие инаktivации хлором от 99,9 до 99,99% выделенных от человека цист лямблий по результатам заражения монгольских песчанок (Hibler с соавт., 1987)

Температура воды, ОС*	pH	Средние значения Ct
0,5	6 - 8	185 - 342
2,5	6 - 8	142 - 268
5,0	6 - 8	146 - 280

* Исследуемый температурный диапазон был выбран с учетом температур воды водосточников в областях, в которых зарегистрировано большинство вспышек лямблиоза

быть эффективно удалены или инаktivированы при использовании обычно применяемых технологий фильтрации и дезинфекции воды. Оптимальным образом управляемое сочетание фильтрации и дезинфекции воды может защитить от передачи лямблиоза водным путем.

При разработке методик определения цист простейших в воде первоначально были предприняты попытки перенести методы клинической диагностики на анализы воды. Однако анализ воды на содержание цист патогенных простейших отличается от анализа клинического материала следующими особенностями:

- низкой концентрацией искомых объектов в пробе;
- присутствием в пробе большого количества организмов фитопланктона, которые могут иметь одинаковые размеры и похожую форму с цистами патогенных простейших.

В связи с тем, что инфицирующая доза лямблий и криптоспоридий может равняться единичным цистам и ооцистам, а их концентрация в воде в природных водоемах по литературным данным составляет десятые доли на литр, для паразитологических анализов необходим отбор проб воды большого объема - десятки и сотни литров.

Все паразитологические методики анализа воды, созданные к настоящему времени, состоят из одинаковых основных этапов:

- фильтрация пробы;
- элюция (отмывка) материала с фильтра;
- очистка материала пробы центрифугированием и (или) флотацией;
- прокрашивание очищенного концентрата пробы;
- микроскопия.

Ввиду того, что микроскопия является самым трудоемким этапом паразитологического анализа воды, методики неспецифического прокрашивания препаратов контрастирующими веществами, заимствованные из клинической диагностики, оказались неприемлимыми для практического анализа воды на содержание цист лямблий и ооцист криптоспоридий.

В 1995 году в США был опубликован первый в мире стандартизированный метод обнаружения цист лямблий и ооцист криптоспоридий с использованием моноклональных антител. В 2006 году методические подходы к обнаружению ооцист криптоспоридий и цист лямблий национальных методик США и Великобритании были объединены в международном стандарте ISO 15553, представляющем различные способы концентрирования с последующей очисткой концентрата с помощью иммуномагнитной сепарации коммерческими наборами различных производителей и мечением очищенного концентрата пробы моноклональными антителами, сконъюгированными с FITC и

DAPI. Метод ISO 15553 явился обобщением последних методических достижений, применяемых за рубежом для рутинного санитарно-паразитологического контроля (рис. 1).

В России паразитологические исследования воды получили систематический характер в конце 80-х годов. Инициатором и инвестором этих научных исследований являлся ОАО «Мосводоканал». Необходимость таких работ была вызвана появлением в иностранной литературе сообщений о возможности передачи лямблиоза через системы водоснабжения, а также публикациями американских авторов о заболеваниях лямблиозом туристов из США после посещения Ленинграда. Поэтому исследовательские и методические работы были направлены прежде всего на определение цист лямблий в природных и питьевых водах.

В 1996 году в новый государственный документ России - Санитарные Правила и Нормы «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем водоснабжения» (СанПиН 2.1.4.559-96, затем СанПиН 2.1.4.1074-01) был впервые введен паразитологический контроль. В качестве нормативного требования СанПиНа предусмотрено отсутствие цист лямблий в 50 литрах воды. Ооцисты криптоспоридий не были включены в СанПиН по питьевой воде ввиду отсутствия приемлемой для рутинных анализов методики контроля.

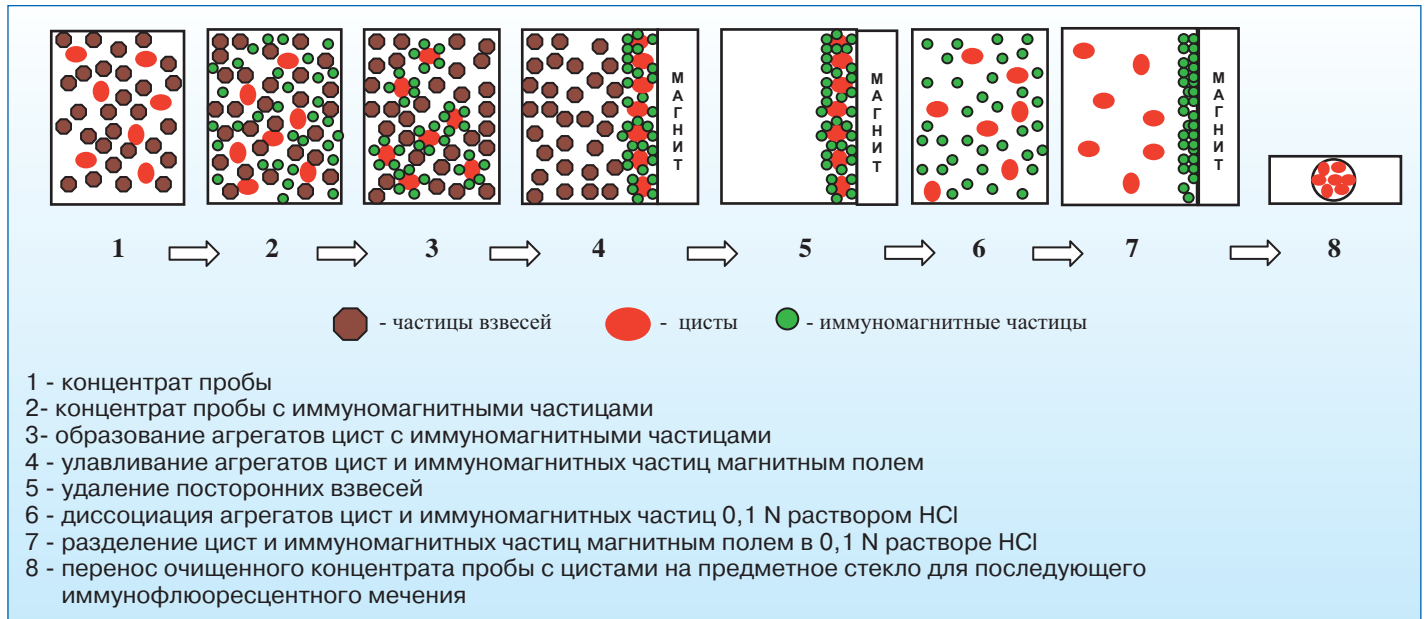
В настоящее время анализы по определению цист лямблий и ооцист криптоспоридий выполняются в соответствии с МУК 2.4.2314-08, в который включены несколько методов санитарно-паразитологического исследования проб питьевой воды (флотационный, иммуномагнитный

Таблица 3. Значения времени контакта - Ct свободного хлора для инаktivации 99% цист лямблий (Hoff, 1986; Jakubowski, 1990)

Температура, ОС	pH	Хлор, мг/л	Время, мин	Значения Ct	Источник выделения цист
3	6,5	0,24 - 1,1	37 - 297	68	Мышь
3	7,5	0,24 - 1,0	150 - 770	140	Мышь
5	7,0	0,41 - 2,73	236 - 467	360	Мышь
5	6,0	1,0 - 8,0	6 - 85	65 - 75	Человек
5	7,0	2,0 - 8,0	7 - 152	97 - 118	Человек
5	8,0	2,0 - 8,0	57 - 164	110 - 142	Человек
5	6,0	2,5 - 3,0	7	20	Человек
15	7,0	2,5 - 3,0	6 - 18	32	Человек
15	8,0	2,5 - 3,0	7 - 21	37	Человек
15	5,0	4,4 - 13	4 - 16	66	Мышь
25	7,0	2,9 - 7,1	4 - 16	29	Мышь
25	9,0	11,6 - 72,6	3 - 16	206	Мышь
25	6,0	1,5	<6	<9	Человек
25	7,0	1,5	<7	<10	Человек
25	8,0	1,5	<8	<12	Человек



■ Рис. 1. Этапы иммуномагнитной сепарации (метод ISO 15553)



методы и метод полимеразной цепной реакции - ПЦР). В связи с высокой себестоимостью выполнения некоторых методов паразитологического анализа в РФ в большинстве лабораторий применяется флотационный метод, представляющий собой модифицированный метод Jakubowski (1984), не рекомендованный автором для рутинного контроля, т.к. он обладает низкой эффективностью и высокой трудоемкостью на этапе микроскопирования.

Внедрение в широкую практику санитарно-паразитологического контроля воды в РФ иммуномагнитной сепарации и иммунофлуоресцентного мечения, положенных в основу всех зарубежных современных методов обнаружения цист лямблий и ооцист криптоспоридий в воде, тормозится отсутствием диагностикомов отечественного производства, высокими ценами и сложностью ввоза импортных коммерческих диагностических наборов. Для очистки проб от взвесей с помощью иммуномагнитных частиц можно использовать препараты иностранных производителей: Dynal IMS, Waterborne Inc., TCS/capture, для мечения препаратов - диагностические наборы Cellab/TCS, Waterborne Inc., AES Chemunex и др.

Существует большое количество способов концентрирования паразитологических проб, таких как фильтрация через мембранные и картриджные фильтры на фильтровальных установках различных модификаций (Владипоровские ПВФ 142, Sartorius и др.), а также картриджная и капсульная фильтрация на дорогостоящих фильтрах Fitamax, Envirochek и др.

Микроскопия является трудоемким этапом паразитологического анализа и требует использования качественной оптики известных производителей, таких как Carl Zeiss, Olympus и др.

Таким образом:

1. Развитие отечественной нормативной базы, регламентирующей санитарно-паразитологический контроль качества воды, опережает развитие методической базы.

2. Целесообразно сосредоточить проведение санитарно-паразитологических исследований воды в хорошо оснащенных региональных лабораториях/центрах.

3. Государственным профильным учреждениям необходимо разработать и организовать производство отечественных иммунофлуоресцентных и иммуномагнитных диагностикомов, отсутствие которых сегодня является препятствием для внедрения в широкую практику современных методов санитарно-паразитологического контроля качества воды.

Светлана Власова, начальник сектора паразитологии и гидробиологии;
Владимир Закатов, паразитолог 2 категории;
Владимир Ларин, кандидат биологических наук, начальник отдела биологических методов анализа.
Аналитический центр ЗАО «РОСА»

Литература

1. Craun, G. F. 1984. Waterborne outbreaks of giardiasis: current status. In *Giardia and Giardiasis*, S. L. Erlandsen and E. A. Meyer, eds. Plenum Press, New York, NY. - p.p.243-261.
2. Лысенко А.Я., Лавдовская М.В. СПИД - ассоциируемые инфекции и инвазии. - М.: 1992 - 327 с.
3. Larin, V.E., Kashkarova, G.P. Occurrence of Giardia Cysts and

Cryptosporidium Oocysts in Surface and Treated Waste Waters of the Moscow Region, Russia // In: Giardia: The Cosmopolitan Parasite, Olson, B., Olson, M. and Wallis, P. (eds), CAB International, Wallingford, UK. - 2002. - p.p. 261-267.

4. Новосильцев Г.И., Продеус Т.В., Сергиев В.П., Романенко Н.А., Беэр С.А., Егоров А.И., Терещенко А.А. Оценка загрязненности воды водоисточников цистами и ооцистами кишечных простейших // ЭКВА-ТЭК-2000: Материалы конгресса // под общ. ред. проф. Л.И.Эльпинера. - М., 2000. - С. 764-765.

5. Jakubowski, W., Craun, G.F. Update on the Control of Giardia in Water Supplies // In: *Giardia: The Cosmopolitan Parasite*, Olson, B., Olson, M. and Wallis, P. (eds), CAB International, Wallingford, UK. - 2002. - p.p. 217-238.

6. Wallis, P.M., Campbell, A.T. Rethinking Disinfection of Giardia Cysts with Ultraviolet Light: Old Light through a New Window // In: *Giardia: The Cosmopolitan Parasite*, Olson, B., Olson, M. and Wallis, P. (eds), CAB International, Wallingford, UK. - 2002. - p.p. 239-259.

7. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества: Санитарные правила и нормы. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. - 103 с.

8. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества: Санитарные правила и нормы. - М.: Информационно-издательский центр Госкомсанэпиднадзора России, 1996. - 111 с.

9. Методы санитарно-паразитологического анализа воды: Методические указания. - М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008 - 35 с.

10. Jakubowski, W. Detection of Giardia cysts in drinking water: state of the art. // In: *Giardia and Giardiasis: Biology, Pathogenesis and Epidemiology*, Erlandsen, S.L. and Meyer, E.A. (eds). Plenum Publishing Corp., New York. - 1984. - p.p. 263-286.