Жамият ва инновациялар –
Общество и инновации –
Society and innovations
Journal home page:
https://inscience.uz/index.php/socinov/index

Lamblia as an indicator of water quality in water sources, depending on the purpose of water consumption

Jalolitdin Sulton NAZAROV[1]

Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino

ARTICLE INFO

Article history:
Received April 2021
Received in revised form
28 April 2022
Accepted 20 May 2022
Available online
10 June 2022

Keywords:
cysts,
giardiasis,
Giardia intestinalis,
open water reservoirs.

ABSTRACT

The article provides information on the study of a water sample from the western coast of the Tudakul reservoir (Bukhara region) for the detection of parasitic agents. This body of water has been assessed for the presence of lamblia cysts (Giardia intestinalis). During the reconnaissance survey (June 2021), on average up to 37 lamblia cysts in 25 dm3 of the examined water were noted. Based on the results of the study, the following could be noted. The above indicator indicates the epidemiological disadvantage of the reservoir in the presence of viable lamblia cysts. In order to avoid parasitic waterborne diseases, constant monitoring of surface water sources used for recreation in the summer season is needed.

2181-1415/© 2022 in Science LLC.
DOI: https://doi.org/10.47689/2181-1415-vol3-iss5/S-pp246-254
This is an open access article under the Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.ru)

Lyambliyalar suvni iste'mol qilish maqsadiga qarab suv manbalarida suv sifatining ko'rsatkichi sifatida

Kalit so'zlar:
giardia intestinalis,
kistalar,
giardiasis,
ochiq suv havzalari.

ANNOTATSIYA

Maqolada parazit qo'zg'atuvchilarni aniqlash maqsadida To'dako'l suv omborining (Buxoro viloyati) g'arbiy qirg'og'idan olingan suv namunalarini o'rganish haqida ma'lumotlar berilgan. Bu suv havzasi Giardia intestinalis sistalari mavjudligi uchun baholandi. Tekshiruvi davomida (2021-yil iyun) o'rganilayotgan suvning 25 dm3 maydonida o'rtacha 37 tagacha lyambliya sistalari aniqlangan. Tadqiqot natijalariga ko'ra, quyidagilarni ta'kidlash mumkin: yuqoridagi ko'rsatkich yashovchan lyambliya sistalarining mavjudligi nuqtayi nazaridan suv omborining epidemiologik noqulayligini

[1] Assistant, department of Microbiology, Virology and Immunology, Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino. Bukhara, Uzbekistan.

ko'rsatadi. Suv orqali yuqadigan parazitar kasalliklarning oldini olish maqsadida yoz mavsumida dam olish uchun foydalaniladigan yer usti suv manbalarini doimiy ravishda kuzatib borish zarur.

Лямблии как показатель качества воды в водоисточниках, в зависимости от целей водопотребления

Ключевые слова:
Giardia intestinalis,
цисты,
лямблиоз,
открытые водоёмы.

АННОТАЦИЯ

В статье изложена информация об изучении пробы воды западного берега в Тудакульском водохранилище (Бухарский регион) на предмет выявления паразитарных агентов. Данный водный объект оценивался на наличие цист лямблий (Giardia intestinalis). При рекогносцировочном обследовании (июнь 2021 года) было отмечено, в среднем, до 37 цист лямблий в 25 dm3 исследуемой воды. На основании полученных результатов исследования можно было отметить следующее: вышеуказанный показатель доказывает эпидемиологическое неблагополучие водоёма по наличию жизнеспособных цист лямблий. Во избежание паразитарных болезней, передающихся водным путем, нужен постоянный мониторинг поверхностных водоисточников, используемых для рекреации в летний сезон.

Лямблии являются одними из самых распространённых паразитов у теплокровных организмов, млекопитающих, птиц и человека. Лямблиоз может приводить к нарушениям работы печени, кишечника и желчного пузыря. Со временем большие количества лямблий покрывают обширные поверхности кишечной стенки, и вносят патологические изменения в секреторную функцию кишечника (рис. №1).

Процесс всасывания жиров, жироподобных веществ, углеводов, витаминов, микроэлементов, а также моторная функция кишечника нарушается. У детей механические раздражающие воздействия, оказываемые лямблиями на эпителий двенадцатиперстной и тонкой кишки, могут привести к дуодениту или энтериту. В процессе лечения массовая гибель лямблий оказывает сильное токсическое воздействие на организм, это в свою очередь может привести к расстройствам нервной системы.

Обнаружить симптомы лямблиоза не всегда бывает легко, явность симптомов при данном заболевании зависит от общего состояния организма. Чаще всего симптоматика лямблиоза проявляется при массовом заражении. При продолжительном заболевании лямблиозом наблюдается общая слабость, головная боль, апатия, повышение температуры и быстрая утомляемость. Часто наблюдаются различные аллергические реакции при сенсибилизации организма.

У детей часто наблюдаются расстройства нервной системы при отравлении продуктами обмена и распада данных паразитов. Выражается это частой раздражительностью, слабостью, плаксивостью. По ночам у детей наблюдается

бруксизм (скрип зубами). Подобное паразитологическое заболевание снижает иммунный статус у детей, что может привести к частым сопутствующим инфекционным заболеваниям у детей с данной патологией [6]. Эмоциональный тонус резко снижается, что заметил еще первооткрыватель данных простейших, чешский медик Д.Ф. Лямбль, который назвал их «паразитом тоски и печали».

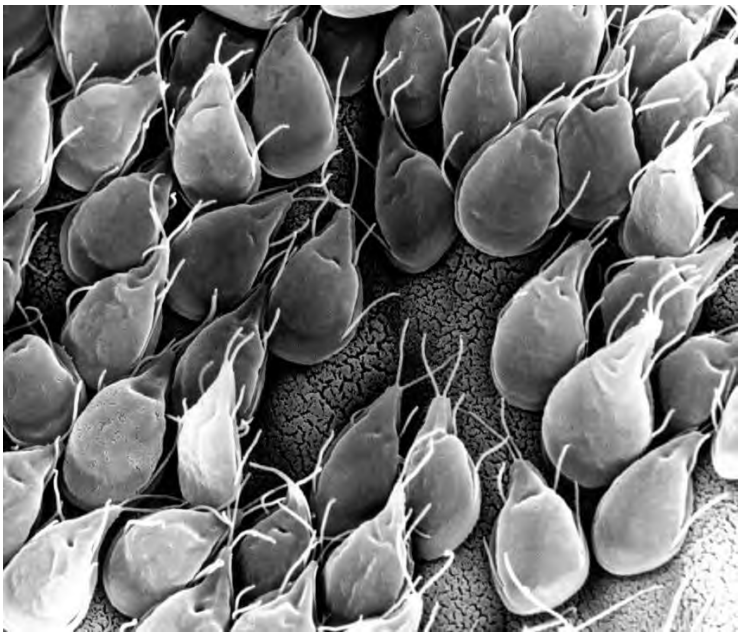

Рисунок № 1. Вегетативные формы лямблий покрывающие эпителий тонкого кишечника

Согласно данным ВОЗ ежегодно лямблиозом заражается 200 млн. человек по всему миру. Лямблиоз распространен повсеместно и относится к числу наиболее частых кишечных паразитозов человека. Но наиболее широкое распространение лямблий наблюдается в странах с жарким климатом. Согласно исследованиям, по видимому, этому способствует углеводная диета, характерная для стран тропического и субтропического поясов. Наличие большого количества фруктов с высоким содержанием сахаров усиливает бродильные процессы в кишечнике, способствующие развитию дрожжевых грибков и лямблий [1].

Как показывают научные исследования, наиболее высокая частота обнаружения цист лямблий наблюдается в водоёмах со стоячей водой, а также сточных водах, которые не прошли должной качественной очистки. Чаще всего случаи заражения лямблиозом наблюдались через контакт с водой из открытых водоёмов (купание, употребление некипячёной воды). Нередки случаи, когда на водоочистных сооружениях не удается полностью удалить цисты лямблий. Связано это с высокой устойчивостью цист лямблий к хлору. Это имеет особое значение для распространения лямблиоза через водопроводную воду. Поэтому водопроводная вода, даже отвечающая по всем санитарным требованиям нормативных документов в отношении микробного загрязнения, может служить причиной «вспышек» лямблиоза связанных с водопроводной водой. В связи с вышеотмеченными фактами представляется весьма важным проводить регулярный мониторинг воды открытых водоёмов на предмет обнаружения цист лямблий.

Так как водозабор пресной воды в Бухарском регионе осуществляется из водохранилищ, очень важно, чтобы вода водоисточников не содержала бы цист лямблий устойчивых к хлорированию. Кроме того, отсутствие цист лямблий в пробах воды косвенным образом свидетельствует о том, что в данном водоисточнике отсутствуют энтерококки, кишечная палочка и многие другие патогенные микроорганизмы.

Стандарты СанПиН предусматривают полное отсутствие цист лямблий в питьевой воде. Полное отсутствие цист Giardia intestinalis в водопроводной воде свидетельствует об эффективной очистке воды от ряда других вредоносных простейших, например, дизентерийной амёбы и т.д.

Обладая высокой резистентностью к процессам обеззараживания, имея способность распространяться и выживать долгое время в воде (летом в сточных водах 3-4 месяца) лямблии представляют собой объект изучения и мониторинга для СЭС в соответствии с санитарными правилами и нормами. При этом особое внимание стоит уделить паразитологической обстановке открытых водоёмов Бухарского региона используемых в рекреационных целях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В климатических условиях Бухарского региона, для многих людей жара это отличный повод отправиться к водоему для отдыха. При этом в период летнего отдыха, очень важным является контроль качества воды открытых водоёмов, которые используются в качестве рекреационных зон. Наиболее часто посещаемым и территориально близким крупным водоёмом для жителей города Бухары является Тудакульское водохранилище, расположенное примерно в 30 километрах восточнее города. В июне месяце 2021 года был произведен отбор воды данного водохранилища на выявление цист лямблий. В полутора метрах от западного берега водохранилища с различной глубины были отобраны несколько проб воды.

С интервалом 2-3 минуты был произведен отбор исследуемой воды в чистые ёмкости (стеклянные бутыли), предварительно подвергшиеся стерилизации. Общий объём воды составил 30 литров. В пробу воды на месте отбора был добавлен коагулянт сульфат аммония $(NH_4)_2SO_4$ в дозе 0,1-0,3 г/л. После тщательного перемешивания, пробы воды отстаивались в течение 2 часов. Полученный в ходе данного процесса осадок был перенесен в другую стерильную ёмкость. Тем самым полученный объем достиг около трех литров воды с исследуемым материалом [5].

Данная проба воды была доставлена в лабораторию в тот же день, где был произведен анализ на выявление количества паразитарных агентов (цист) *Giardia spp*. Согласно методике санитарно-паразитологического исследования воды цисты лямблий обнаруживаются при микроскопическом исследовании осадка, получаемого после центрифугирования не менее 4-кратно разведенного раствора флотанта с плотностью 1,26, в который искомые паразитарные агенты попадают из осадка, смываемого с мембранных фильтров после фильтрации через них исследуемой воды. Данный метод обладает чувствительностью с пределом обнаружения, равным единичным цистам лямблий на 1 литр. Кроме того, эффективность методики при выделении цист лямблий зависит от концентрации паразитарных агентов в пробе, мутности, обилия фитопланктона и т.д. [2].

В лаборатории содержимое сосуда с полученной пробой воды, подвергли отстаиванию в течение часа. После этого была удалена надосадочная жидкость, а полученный осадок был перенесен в пробирки объемом 10 мл. и процентрифугирован в течение 5 минут. К полученному после центрифугирования осадку добавили 3 мл 1% раствора HCl для растворения хлопьев коагулянта и снова процентрифугировали, после удалили надосадочную жидкость, а оставшийся осадок обработали согласно методике мембранной фильтрации на выявление цист лямблий.

Исследуемый объем воды с помощью фильтровального устройства пропустили через мембранные фильтры, после чего полученный в ходе фильтрации осадок, чистой мягкой кисточкой, смыли с фильтров в широкогорлую ёмкость. Полученный, таким образом смыв был подвергнут центрифугированию в пробирках ёмкостью 10 мл. в течение 5 минут. Полученную надосадочную жидкость слили, на этом этапе для определения жизнеспособности паразитарных патогенов, к осадку добавили воду для получения суспензии. После чего данную смесь вновь процентрифугировали в прежнем режиме, удалили надосадочную жидкость, а к осадку добавили 3 мл. флотанта (30% водный раствор сахарозы) и тщательно перемешали стеклянной палочкой.

Снова полученный раствор был процентрифугирован в течение 10 минут, после чего надосадочную жидкость перенесли пипеткой в центрифужную пробирку, разбавили не менее чем в 4 раза дистиллированной водой и снова подвергли центрифугированию в прежнем режиме.

После заключительного центрифугирования, по мере удаления надосадочной жидкости был получен концентрированный осадок, из которого были приготовлены препараты на предметных стеклах. Окраску препаратов для выявления жизнеспособных цист провели при помощи 1% водного эозина. При окраске препарата 1% водным раствором эозина жизнеспособные цисты лямблий не воспринимают окраску в течение первых 5 минут, мертвые окрашиваются сразу же в розовый цвет. Поэтому указанную окраску следует использовать до микроскопии только в том случае, когда на изучение препарата потребуется не более 5 минут. Часто просмотр мазка длится 15-30 минут, тогда 1% водный эозин можно вводить аккуратно, не сдвигая препарат, под покровное стекло пипеткой в точке, где при предварительном просмотре уже обнаружены цисты лямблий. Окрашенные препараты накрыли покровными стеклами и подвергли микроскопированию при помощи иммерсионного микроскопа со 100-кратным объективом. При микроскопировании было подсчитано число паразитарных патогенов во всем объеме осадка, что соответствовало их числу во всей исследованной пробе воды.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основной задачей при микроскопировании было определение систематической принадлежности обнаруживаемых паразитических организмов. Идентификация цист лямблий была проведена по следующим признакам. При окраске препарата 1% раствором эозина и последующем микроскопировании, были выявлены цисты овальной формы. Характерной особенностью данных цист было то, что четко выраженная оболочка большей частью отставала от протоплазмы. Также внутри цисты вдоль по передней линии проходили две

опорные нити – аксостили присущие для представителей рода лямблий. Были обнаружены цисты, содержащие как 2 ядра (незрелые цисты) так и цисты с 4 ядрами (зрелые цисты), вторых количественно было больше. Ядра располагались ближе к одному из полюсов цисты (рис. №2).

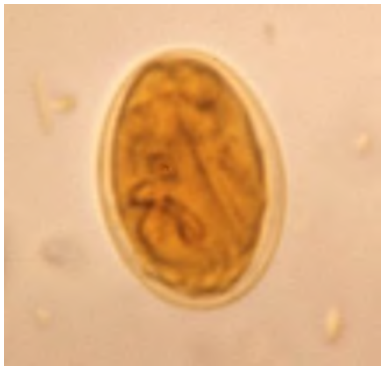

Рис. № 2. Циста *Giardia intestinalis*

Кроме этого, при окраске препарата 1% водным раствором эозина жизнеспособные цисты лямблий не сразу воспринимали окраску в течение первых 5 минут, что свидетельствовало о жизнеспособности цист, так как мертвые цисты окрашивались сразу же в розовый цвет. Все это являлось свидетельством того, что в данном водоёме присутствуют жизнеспособные цисты лямблий. Суммарно, в исследуемой пробе воде Тудакульского водохранилища было обнаружено до 37 цист лямблий в 25 dm^3 воды (таблица №1).

Таблица 1

Выявляемость цист Giardia spp. из проб воды Тудакульского водохранилища

Показатели	Giardia spp, в 25 dm^3 воды
Норматив O‘zDSt	Отсутствие цист лямблий
Результаты	37 цист

Примечание: Погрешность использованной методики составляет ±20%;

В государственном стандарте Республики Узбекистан O‘zDSt 950:2011 «Вода питьевая» предусмотрено отсутствие цист лямблий в 25 dm^3 питьевой воды. Этот норматив применим также и к воде рекреационного назначения. Заражающая доза при лямблиозе составляет порядка 10-100 цист, и существует риск заболевания лямблиозом после купания в открытых водоёмах содержащих жизнеспособные цисты лямблий. Тудакульское водохранилище в летнее время активно используется горожанами как зона отдыха. Следовательно, вышеуказанный показатель указывает на эпидемиологическое неблагополучие водоёма по паразитологической обстановке, для рекреационного пользования.

Кроме того, немаловажное значение здесь имеет и другой факт. Как известно из научных исследований серьезная проблема при мониторинге водоисточников на предмет качества воды заключается в том, что некоторые патогены, особенно

цисты простейших, более устойчивы к химической дезинфекции, чем скажем индикаторные колиформные бактерии. Благодаря использованию сложных методов обнаружения вирусов было обнаружено, что химически продезинфицированные образцы воды, не содержащие колиформ, часто все же бывают, загрязнены кишечными вирусами.

Цисты лямблии *Giardia* и ооцисты *Cryptosporidium* настолько устойчивы к хлорированию, что полностью удалить их этим методом, вероятно, нецелесообразно; необходимы механические методы, такие как фильтрация. Общее правило хлорирования заключается в том, что вирусы более устойчивы к дезинфекции, чем *E. coli*, а цисты *Cryptosporidium* и *Giardia* в 100 раз более устойчивы, чем вирусы [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Регулярный мониторинг воды хозяйственного и питьевого назначения включает тестирование на наличие индикаторных бактерий, то есть микроорганизмов, обычно обнаруживаемых в желудочно-кишечном тракте млекопитающих, присутствие которых может указывать на вероятное заражение фекальными массами. Тестирование паразитарных патогенов, таких как *Giardia* и *Cryptosporidium* или бактерий рода *Salmonella*, *Shigella* будет затруднено с учетом больших объёмов исследуемой воды и может не обеспечить необходимый запас безопасности.

Наиболее полезными кишечными бактериями при обычном мониторинге микробного загрязнения воды являются колиформные бактерии (кишечная палочка и аналогичные бактерии). Колиформные бактерии, а также фекальные стрептококки, выживают в природных водах, но не размножаются там. Таким образом, обнаружение их в большом количестве указывает на недавнее загрязнение фекалиями и возможное присутствие кишечных патогенов. При обнаружении значительного количества бактерий группы кишечной палочки или фекальных стрептококков вода считается небезопасной для питья [3].

В США, на Гавайях, предельно допустимый уровень для загрязнения воды энтерококками на побережье составляет 7 КОЕ на 100 мл воды, при превышении которого не рекомендуется заходить в воду. В 2004 году в новом федеральном стандарте качества воды на общественных пляжах США фекальные колиформы были заменены на Enterococcus spp. Полагают, что это обеспечит более высокую корреляцию со многими широко распространенными в городской канализации патогенами человека [4].

Для оценки эффективности водоочистных сооружений можно использовать споры сульфитредуцирующих клостридий. При наличии дефектов в технологии обеззараживания воды спорообразующие клостридии будут первыми из бактерий, которые преодолеют этот барьер.

СРК – индикаторные микроорганизмы, поскольку их наличие указывает на возможное присутствие в воде сходных по устойчивости цист и ооцист простейших, а также жизнеспособных яиц гельминтов [8].

Попадание в водоисточники сточных вод (особенно с сельскохозяйственных предприятий), ливневых стоков, выпас сельскохозяйственных животных и хозяйственная деятельность в рекреационных зонах, способствует загрязнению открытых водоёмов различными паразитарными агентами. Для профилактики

лямблиоза, во избежание контаминации лямблиями водных резервуаров, необходимо учитывать важную роль отведенную защите поверхностных водоисточников, от загрязнения сточными водами.

Цисты лямблий в отличие от свободно живущих форм являются основным источником угрозы заражения человека и животных, распространяясь во внешней среде, в частности водным путем. Цисты лямблий отличаются устойчивостью к агрессивным воздействиям, а также щелочам и кислотам. Большое санитарное значение имеет регулярное исследование воды поверхностных водоёмов на содержание цист лямблий. Убедившись, что в отобранном образце паразиты не обнаружены, можно косвенно установить, что жидкость очищена и от ряда других простейших микроорганизмов, вирусов и патогенных бактерий, в том числе кишечной палочки. Не в последнюю очередь это связано с тем, что цисты лямблий устойчивы к хлорированию воды, которое применяется для бактериального обеззараживания.

Тем самым можно заключить, что тестируемые образцы воды, в которых не будут присутствовать цисты лямблий, автоматически будут свидетельствовать о высоком качестве самой воды и косвенно о санитарном благополучии прилегающей местности.

Как показало рекогносцировочное обследование на предмет экологической обстановки озера Тудакуль, летом 2020 года, класс качества воды соответствовал в основном III классу (умеренно-загрязненные воды). Не в последнюю очередь это связано с антропогенной нагрузкой, которая вызывает изменения в составе и структуре водных сообществ [7]. В водной среде лямблии могут сохраниться только в виде цист, тем самым фекально-оральный путь заражения (с зараженной водой или пищей) актуален в летнее время для огромного количества отдыхающих людей.

Исследования, изучающие проблему лямблиоза, отмечают, что наибольший процент выявляемости цист *Giardia spp*. в Бухарском регионе приходится на самое жаркое время года, июнь и июль месяцы. Тем самым, для предупреждения паразитарных болезней передающихся водным путем нужен постоянный мониторинг поверхностных водоисточников в летний сезон, в период массового посещения отдыхающими различных акваторий. А отсутствие в пробах воды цист простейших, будет косвенно свидетельствовать о качестве воды на предмет бактериальных и вирусных патогенов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ:

1. Козлов С.С., Сергиев В.П., Лобзин Ю.В. «Паразитарные болезни человека. Протозоозы и гельминтозы». – Фолиант, Санкт-Петербург, 2016. – С. 640.

2. Методические указания по санитарно-паразитологическому исследованию воды хозяйственного и питьевого использования. – Ташкент, 2008.

3. Cowan M.K. et al. “Microbiology Fundamentals: a clinical approach”. – Third edition. – New York, 2019. – McGraw-Hill Education.

4. Jin G., Jeng H.W., Bradford H., Englande A.J. Comparison of E. coli, enterococci, and fecal coliform as indicators for brackish water quality assessment // Water Environment Research: journal. – 2004. – Vol. 76, no. 3. – PP. 245–255.

5. Nazarov J.-S.E. Giardia oocysts as an indicator of the safety of water sources for recreational use // Microbiology: yesterday, today, tomorrow. Abstract book of International conference devoted to the 100th anniversary of Microbiology Department at Kazan University. – Kazan, 2021. – P. 143.

6. Nazarov J., Sharipova M.A. The Immune System in Children with Different incidence Rates Ard // Central Asian journal of medical and natural sciences. – 2021. – PP. 5–7.

7. Nazarov Jalolitdin Sulton Erkinovich Assessment of the Ecological State and Water Quality Class of Water Bodies in the Bukhara Region According to the Periphyton Indicators // Indian Journal of Environmental Protection. – Volume 42. – No 3. – PP. 367–373.

8. Nuraliev N.A., Nazarov J.-S.E. Sulfite-reducing bacteria as an assessment of the quality of water disinfection // Microbiology: yesterday, today, tomorrow. Abstract book of International conference devoted to the 100th anniversary of Microbiology Department at Kazan University. – Kazan, 2021. – P. 146.

9. Tortora G.J. et al. “Microbiology: an introduction”. – Thirteenth edition. – Pearson. – Boston, 2019.