

## **Sesja 6**

### **Molekularna epidemiologia wodnopoходnych pasożytów ludzi i zwierząt**



## ***Cryptosporidium* spp. infections in hospitalized patients in Poland**

**Anna Bajer<sup>1</sup>, Małgorzata Bednarska<sup>1</sup>, Simone Caccio<sup>2</sup>, Beata Kuśnierz-Wolska<sup>3</sup> and Edward Siński<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Parasitology, Institute of Zoology, Faculty of Biology, University of Warszawa, Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa, Poland

<sup>2</sup>Division of Gastroenteric and Tissue Parasitic Diseases, Department of Infectious, Parasitic and Immunomediated Diseases, Istituto Superiore di Sanita, Roma, Italy

<sup>3</sup>Gastroenterology, Hepatology and Immunology Clinic, Children's Memorial Health Institute (CMHI), Warszawa, Av Dzieci Polskich 20, 04-730, Warszawa, Poland

*Cryptosporidium* parasites cause a severe illness (cryptosporidiosis) in immunocompromised humans all over the world. However, in Poland there is still little known on epidemiology of these parasites due to the paucity of data on human cases. The problems of epidemiology concern the existence of multiple transmission routes, including anthroponotic and zoonotic transmission. During last 10 years the wide range of various molecular techniques, basing mostly on Polymerase Chain Reaction (PCR), was employed for the detection of sources of human infections. The aim of this study was molecular typing of *Cryptosporidium* spp. isolates from hospitalized patients with or without different immunodeficiencies. Thirty five human isolates were derived from clinical cases of children and adult patients of The Children's Memorial Health Institute, Cancer Centre in Warsaw and Children's Hospital in Otwock. Isolates were characterised by nested-PCR amplification of a fragment of *Cryptosporidium* Oocyst Wall Protein (COWP) gene and sequence analysis of 550 bp PCR product. Obtained sequences were compared with sequences deposited in GenBank data base. Among 13 positive isolates three different *Cryptosporidium* species were identified: *C. hominis*, *C. parvum* and *C. meleagridis*. These results suggest different routes of transmission of this parasite in humans in Poland with possible important role of zoonotic transmission.

The study was partially supported by State Committee for Scientific Research, KBN, through Faculty of Biology, Warsaw University intramural grant, BW 1601/53 and KBN grant no. 2PO4C09827.

## Diagnostyka molekularna *Acanthamoeba* spp. izolowanych z prób środowiskowych

## Molecular diagnostics of *Acanthamoeba* spp. isolated from environment

Monika Derda i Edward Hadaś

Uniwersytet Medyczny, Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, 61-701 Poznań, ul. Fredry 10; E-mail: mderda@ump.edu.pl

Pełzaki wolno żyjące z rodzaju *Acanthamoeba* są czynnikiem etiologicznym ziarniniakowego zapalenia mózgu, zapalenia rogówki oka oraz zapalenia innych narządów. Istotnym warunkiem prognostycznym leczenia zarażenia pełzakami jest szybkie rozpoznanie inwazji. Dotychczasowe metody diagnostyczne i identyfikacji pełzaków są czasochłonne. Opierają się głównie na mikroskopowej ocenie cech morfologicznych poprzedzonej hodowlą pełzaków na podłożach.

Celem naszych badań było opracowanie nowej, szybkiej metody wykrywania i identyfikacji pełzaków z rodzaju *Acanthamoeba* izolowanych z prób środowiskowych oraz z materiału diagnostycznego pobranego od pacjentów.

Materiałem badanym były próbki wody pochodzące z jezior i stawów, a także próbki wody wodociągowej.

Identyfikację pełzaków prowadzono techniką PCR wykorzystując dwie pary starterów: Nelson i ACARNA oraz metodą mikroskopową porównawczo ze szczepami standardowymi. Przebadano 6 szczepów wzorcowych oraz 46 izolatów pochodzących z prób środowiskowych.

Badania wykazały, że startery ACARNA są specyficzne dla rodzaju *Acanthamoeba* i w reakcji z DNA tych pełzaków dają produkt — 272 pz. Reakcję pozytywną uzyskano w przypadku szczepów wzorcowych oraz 15 z przebadanych izolatów. Szczepy wzorcowe *Hartmanella* i *Naegleria* oraz pozostałe 31 izolatów dawały reakcję negatywną. Badania PCR z zastosowaniem starterów Nelson wykazały, że DNA szczepów *Acanthamoeba* w reakcji PCR dają produkt o wielkości 229 pz, DNA *Hartmanella* daje produkt 180 pz, natomiast szczepy *Naegleria* nie dają reakcji z tymi starterami.

Stwierdzono, że stosując technikę PCR-u można w krótkim czasie w badanym materiale wykryć i rozpoznać rodzaj *Acanthamoeba*.

## Ocena częstości występowania zarażeń *Cryptosporidium* spp. u dzieci z biegunką

### Evaluation of prevalence of *Cryptosporidium* spp. infection in children with diarrhea

Elżbieta Gołąb<sup>1</sup>, Maria Waloch<sup>1</sup>, Wioletta Rożej<sup>1\*</sup>, Teresa Wernik<sup>2</sup>, Mariola Piotrowska<sup>2</sup>, Maria Wąsik<sup>2</sup> i Tadeusz H. Dzbeński<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Parazytologii Lekarskiej, Państwowy Zakład Higieny

<sup>2</sup>Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieków Rozwojowego, Samodzielny Publiczny Dziecięcy Szpital Kliniczny, Warszawa

\*Autor do korespondencji: E-mail: wrozej@gmail.com

*Cryptosporidium* należy do pierwotniaków rozwijających się w komórkach nabłonka jelitowego. Konsekwencją zarażenia jest rozwój stanu zapalnego błony śluzowej jelita, który objawia się najczęściej bólami brzucha, nudnościami, wymiotami oraz wodnistą biegunką z dużą ilością śluzu. Kryptosporydioza u osób immunokompetentnych przebiega na ogół łagodnie i ulega samowyleczeniu w ciągu kilku dni, jednak u osób z obniżoną czynnością układu odpornościowego bywa przewlekła i wyniszczająca. Oszacowano, że *Cryptosporidium* wywołuje około 2% biegunek występujących u ludzi immunokompetentnych w krajach rozwiniętych. Niestety brakuje danych dotyczących występowania kryptosporydiozy w Polsce, ponieważ zwykle *Cryptosporidium* nie jest brane pod uwagę przy poszukiwaniu czynnika etiologicznego biegunek, zarówno w przypadkach zachorowań pojedynczych jak i w ogniskach zatruc pokarmowych.

W celu określenia częstości występowania *Cryptosporidium* jako przyczyny biegunek u dzieci przeprowadzono badania 122 próbek kału pobranych od dzieci, u których w rezultacie rutynowo przeprowadzonych badań mikrobiologicznych nie określono czynnika etiologicznego biegunki. Zbadane dzieci, w tym 63 dziewczynki i 59 chłopców w wieku od 1 miesiąca do 9 roku życia (średnia 3 lata), były hospitalizowane w dwóch szpitalach warszawskich.

Próbki kału badano mikroskopowo po sporządzeniu rozmazów zabarwionych zmodyfikowaną metodą Ziehl-Neelsena oraz wykorzystując metodę immunofluorescencji bezpośredniej (zestaw MeriFluor *Cryptosporidium*/Giardia firmy Meridian)

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono obecność oocyst *Cryptosporidium* w próbkach kału 36 dzieci, w tym 20 dziewczynek i 17 chłopców w wieku od 0,5 do 3 roku życia.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że *Cryptosporidium* jest często występującym czynnikiem etiologicznym biegunki u małych dzieci, wydaje się więc niezbędnym wprowadzenie badań w kierunku kryptosporydiozy do schematu diagnostyki laboratoryjnej zakażeń przewodu pokarmowego u dzieci.

## Contamination of fresh food products with dispersive stages of intestinal parasites

Szymon Jędrzejewski and Anna C. Majewska

Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Fredry 10, 61-701 Poznań, Poland; E-mail: szyjedrz@amp.edu.pl

It has long been known that food products can be contaminated with dispersive stages of intestinal parasites, the number of documented foodborne outbreaks is increasing each year. Fresh produce consumed with minimal preparation, is a potential vehicle of dispersive stages of intestinal parasites. Fresh food products have complex surface and porosity, for which reason they are a difficult matrix for laboratory testing and standardization. We have initiated testing commercial fresh produce at the retail level to assess their contamination with protozoan parasites. A total of 70 food product samples (9 sprouts, 16 heads of lettuce, 7 bunches of herbs, 20 berries containers, 18 vegetable samples) were analyzed. Food products were purchased from various retail types in the Wielkopolska region. Each pellet obtained from food samples was examined using microscopic identification and commercial immunological tests (EIA, IFA).

Dispersive stages of protozoan parasites were detected in 18.6% of food items; in 33.3% of sprouts units, 18.8% of lettuce units, 5.56% of vegetable units and 5.0% of fruit units. *Giardia intestinalis* cysts were found in 2 units of berries (10%); *Cryptosporidium* sp. oocysts in 3 units of sprouts, 4 units of lettuce, 2 herbs units and in one unit of fruit and vegetable. Additionally we found *Blastocystis* spp. cysts in 17.15% of samples. Sprouts were significantly more likely to be contaminated with *Cryptosporidium* oocysts than the other food products. Fruits were more likely to be contaminated with *Giardia* cysts.

The results of present research indicate that contaminated fresh food products could be a source of parasite infections in humans.

## Contamination of fresh food produce from various retail types with human-virulent microsporidian spores

**Szymon Jędrzejewski<sup>1</sup>, Thaddeus K. Graczyk<sup>2,3,4</sup>, Anna Słodkowicz-Kowalska<sup>1</sup>, Leena Tamang<sup>2</sup> and Anna C. Majewska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Poznań, Poland; E-mail: szyjedrz@amp.edu.pl

<sup>2</sup>Department of Environmental Health Sciences, Division of Environmental Health Engineering, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>3</sup>Johns Hopkins University Center for Water and Health, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>4</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

Consumption of fresh food products has constantly been increasing globally, as an essential part of a healthy diet. However, a growing trend of foodborne outbreaks indicates that consuming fresh food products is not always risk free. Microsporidia are obligate eukaryotes parasitizing a wide range of hosts, with *Enterocytozoon bieneusi* and *Encephalitozoon intestinalis* being the most common microsporidian opportunistic pathogens in humans. Although, fresh food products have been contaminated with a variety of human pathogens, reports on contamination with microsporidian spores are scant.

The aim of the study was examination of various fresh products for human-virulent microsporidia. A total of 80 food products (berries, sprouts and vegetables) were purchased from various retail types in the Wielkopolska region. Each pellet obtained from food samples was examined using chromotrope, CalcoFluor White M2R, and FISH technique. All spore-positive samples were re-tested by multiplexed FISH assay.

Human-virulent microsporidian spores were detected in 11.3% of food items; in 24.0% of berry units, 5.0% of sprouts, and 5.7% of vegetable units. *E. intestinalis* was identified in 4 units of berries; *E. bieneusi* in 2 units of raspberries, 1 mung bean sprouts, and 1 curly lettuce; and *E. cuniculi* in parsley leaves.

The present study demonstrated that: (a) fresh produce can contain potentially viable spores of *E. bieneusi*, *E. intestinalis*, and *E. cuniculi*; (b) berries can be contaminated with human-virulent microsporidian spores at a significantly higher proportion than sprouts and vegetables; (c) various fresh produce retail types can distribute contaminated products.

## Identyfikacja zwierzęcych rezerwuarów inwazyjnych dla człowieka mikrosporydiów w Ogrodzie Zoologicznym w Poznaniu

### Animal reservoirs of human-virulent microsporidian species in the Poznan Zoological Garden

**Anna Słodkowicz-Kowalska<sup>1</sup>, Thaddeus K. Graczyk<sup>2,3</sup> i Anna C. Majewska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska; E- mail: aslodk@ump.edu.pl

<sup>2</sup>Division of Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Sciences, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>3</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

W ostatnich latach stwierdzono, że niektóre gatunki ssaków są rezerwuarem inwazyjnych dla człowieka mikrosporydiów: *Enterocytozoon bienersi*, *Encephalitozoon hellem*, *Encephalitozoon cuniculi* i *Encephalitozoon intestinalis*. Celem niniejszej pracy było zbadanie kału ssaków, hodowanych w Ogrodzie Zoologicznym w Poznaniu, na obecność mikrosporydiów inwazyjnych dla człowieka.

Materiał badań stanowiło 365 prób kału od 20 gatunków ssaków z 11 rzedów i 39 rodzin. Ze świeżych prób kału wykonywano trwałe rozmazy, które barwiono chromotropem. Preparaty przeglądano w mikroskopie świetlnym, stosując obiektyw immersyjny. W celu potwierdzenia mikroskopowej identyfikacji spor i określenia gatunku mikrosporydium zastosowano technikę FISH (fluorescent *in situ* hybridization).

Dotychczas, w jednej próbie kału (0,3%) uzyskanej od lemura wari czerwonego (*Varecia variegata rubra*) stwierdzono obecność spor *E. intestinalis*. U lemura nie zaobserwowano żadnych objawów chorobowych. Według naszej wiedzy, po raz pierwszy w Polsce wykryto *E. intestinalis* u ssaków, a lemur wari czerwony jest nowym gatunkiem żywiciela. Warto również dodać, że lemur wari czerwony znajduje się na liście gatunków zagrożonych. Mimo, że lemur wari był zarażony bezobjawowo, to jednak może być źródłem encefalitozoonozy dla innych zwierząt hodowanych w ZOO oraz dla opiekunów zwierząt i osób zwiedzających ogród zoologiczny.



## Role of wild, captive and domestic birds in the environment contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in western Poland

**Anna Słodkowicz-Kowalska<sup>1</sup>, Thaddeus K. Graczyk<sup>2,3</sup>, Szymon Jędrzejewski<sup>1</sup>, Piotr Zduniak<sup>4</sup>, Piotr Solarczyk<sup>1</sup>, Andrzej Nowosad<sup>5</sup>, Piotr Nowosad<sup>1</sup> and Anna C. Majewska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Poznań, Poland; E-mail: aslodk@ump.edu.pl

<sup>2</sup>Division of Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Sciences, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>3</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>4</sup>Department of Avian Biology and Ecology, Adam Mickiewicz University

<sup>5</sup>Department of Systematic Zoology, Adam Mickiewicz University, Poznań, Poland.

There are a lot of sources of environmental contamination with human waterborne parasites. A large variety of birds species can sustain a reservoir for human infectious protozoan parasites. However, the role of such birds in contamination of aquatic habitats with such parasites has not been adequately investigated. The aim of study was the examination of fecal samples of wild, captive and domestic birds for the presence of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts and determination which of examined bird species take part in environment contamination with dispersive stages of the protozoan parasites.

A total of 499 fecal specimens were sampled from 308 wild birds, 90 captive birds, and 101 domestic birds. From all fecal specimens wet and stained (hematoxylin and Ziehl-Neelsen techniques) smears were prepared. Moreover, to detect the *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts the FISH technique (Fluorescent *In Situ* Hybridization) was used.

*Giardia* cysts were detected in 7.5% wild birds (greyleg goose, mallard duck, mute swan, ducks goosander and carrion crow), 2.2% captive birds (white stork and black crowned-crane) and in one domestic goose. *Cryptosporidium* oocysts were detected in feces obtained from 5.8% wild birds (mute swan, ducks goosander, white stork, carrion crow and rook) and in one mandarin duck from Zoo. The prevalence of both protozoan species was significantly higher in free-living avian species, than in captive and domestic birds. The results of our research demonstrated that birds play a role in the environment contamination with *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts.

## **Molekularna identyfikacja inwazyjnych dla człowieka mikrosporydiów w kale gołębi z wybranych regionów Polski**

### **First molecular identification of human-virulent microsporidian species in pigeons in Poland**

**Anna Słodkowicz-Kowalska<sup>1</sup>, Andrzej Nowosad<sup>2</sup>, Thaddeus K. Graczyk<sup>3,4</sup>,  
Piotr Solarczyk<sup>1</sup>, Szymon Jędrzejewski<sup>1</sup> i Anna C. Majewska<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska; E-mail: aslodk@ump.edu.pl

<sup>2</sup>Zakład Zoologii Systematycznej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Polska

<sup>3</sup>Division of Environmental Health Engineering, Department of Environmental Health Sciences, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

<sup>4</sup>Department of Molecular Microbiology and Immunology, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, Baltimore, MD, USA

W ostatnich latach stwierdzono, że dzikie gołębie w miastach mogą być żywicielami inwazyjnych dla człowieka gatunków mikrosporydiów. Toteż celem tych badań było sprawdzenie, czy dzikie i hodowlane gołębie z wybranych terenów Polski są zarażone mikrosporydiami. Łącznie zbadano 26 zbiorowych prób kału gołębi (9 prób kału od gołębi miejskich i 17 prób kału od gołębi hodowlanych). Próby kału od gołębi miejskich zebrano z 2 miejsc w Poznaniu, natomiast próby kału od gołębi hodowlanych pobrano z gołębników 4 hodowców z Dolnego Śląska i jednego z Wielkopolski. Barwione chromotropem rozmazy kału badano mikroskopowo. W celu identyfikacji gatunku mikrosporydium wykorzystano fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* (FISH). Mikrosporydia wykryto tylko w 3 próbach kału gołębi hodowlanych. *E. hellem* stwierdzono w próbach kału uzyskanych z 2 gołębników, natomiast spory *E. intestinalis* w jednej próbie kału. Wszystkie próby pozytywne uzyskano z 3 gołębników na Dolnym Śląsku.

Po raz pierwszy w Polsce wykryto w kale gołębi inwazyjne dla człowieka gatunki mikrosporydiów. Kontakt z odchodami tych ptaków może stanowić źródło mikrosporydiozy dla hodowców gołębi.

## Identification of *Giardia* genotypes in artiodactyles

**Piotr Solarczyk and Anna. C. Majewska**

Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Fredry 10, 61-701 Poznań, Poland; E-mail: psolar@amp.edu.pl

Protozoan parasites of *Giardia* genus infect many species of vertebrates. The role of animals in transmitting *Giardia* to humans remains unclear because cysts of most *Giardia* species and genotypes are morphologically identical. Although artiodactyles are commonly infected with *Giardia*, there is little molecular evidence that the animals may be origin of *Giardia* infection in humans.

The present study was performed to examine the genotypes of *Giardia* in wild and captive ruminants. Fecal samples were collected from 4 species of ruminants; 22 specimens were obtained from wild cervids and 2 samples from captive ruminants. Wet and stained fecal smears were microscopically examined. *Giardia* cysts were detected in one specimen obtained from wild red deer. The cysts were purified using 0.85 M sucrose gradient centrifugation technique. Axenic culture was received by inoculation of trophozoites obtained by *in vitro* excystation procedure. Total DNA was extracted from *Giardia* cysts and trophozoites. Molecular characterization of *Giardia* isolate from gazelle Thomsoni was also performed. The axenic *Giardia* isolate from gazelle was obtained previously (Majewska et al. 2004). DNA was amplified using primers directed to the  $\beta$ -giardin gene. Sequencing of the amplicons revealed that *Giardia* from red deer belonged to assemblage A, whereas the isolate from gazelle to assemblage B.

This is the first report of axenic *Giardia* isolate and assemblage A from red deer as well as assemblage B in gazelle Thomsoni. Both species of the ruminants could be a potential source of *Giardia* infections for humans. Nevertheless, it is also possible that the animals become infected with *Giardia* of human origin.

## Molecular identification of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. in humans and animals

**Piotr Solarczyk and Anna C. Majewska**

Department of Biology and Medical Parasitology, Poznan University of Medical Sciences, Fredry 10, 61-701 Poznań, Poland; E-mail: psolar@amp.edu.pl

*Giardia* and *Cryptosporidium* are enteropathogens of humans and animals. The parasites may represent either zoonotic or host-specific genotypes. The aim of the study was carried out to determine the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* species and genotypes in humans and animals utilizing molecular techniques.

Seven hundred and seventy eight fecal samples, including 131 from humans and 647 from animals, were examined. *Cryptosporidium* oocysts were identified in 31 fecal specimens from cattle, 1 from giraffe and 1 from gopher (*Citellus citellus*). *Giardia* cysts were identified in 5 samples obtained from ZOO animals (3 from cactus mice, *Peromyscus eremicus*; tamandua, *Tamandua tetradactyla*; giant toad, *Bufo marinus*), and in sample from dog and man. Moreover, 5 axenic *Giardia* isolates from sheep, silvery marmoset (*Callithrix argentata*) and from humans were also analyzed. Total DNA was extracted from oocysts and trophozoites. DNA was amplified using primers directed to *Giardia*  $\beta$ -giardin or *Cryptosporidium* COWP genes. Three animal specimens (sheep, marmoset, tamandua) and 4 human samples were positive for *Giardia* by PCR, whereas 3 bovine samples for *Cryptosporidium*. All PCR positive specimens were sequenced to determine the species and genotype. The sequences were compared with those in the GeneBank database by BLASTn analysis. Sequenced data revealed that all *G. intestinalis* isolates from humans and animals belonged to assemblage B, whereas the *C. parvum* isolates from cattle to "bovine" genotype. The results of the study indicated that all of the genotypes are zoonotic and therefore transmission of the parasites between humans and animals in Wielkopolska region is possible.

## Zagrożenie dla zdrowia ludzi wynikające z obecności oocyst *Cryptosporidium* w wodzie w świetle przepisów prawa

### Regulation aspects of the potential danger to human health arising from the presence in water of *Cryptosporidium* oocysts

Bożenna Toczyłowska

Instytut Techniki Budowlanej, ul. Ksawerów 21, 02-656 Warszawa

Woda jest jednym z głównych źródeł pośredniej transmisji oocyst *Cryptosporidium* spp. Ochrona zdrowia ludzi przed tymi pasożytniczymi pierwotniakami przenoszonymi drogą wodną została zaliczona do priorytetów zdrowia publicznego, co znalazło odbicie w licznych przepisach prawa, wytycznych i normach.

W przepisach Unii Europejskiej zasady postępowania dotyczące bezpieczeństwa wody przeznaczonej do spożycia, związane z obecnością oocyst *Cryptosporidium* są przedmiotem dwóch Dyrektyw:

- w Dyrektywie 2003/99/WE w sprawie monitorowania chorób odzwierzęcych i odzwierzęcych czynników chorobotwórczych,
- w Dyrektywie 1998/83/WE w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.

Postanowienia powyższych Dyrektyw zostały wdrożone do prawa polskiego. Przepisy te nakazują, aby w sytuacji zagrożenia epidemiologicznego badać, czy nie ma zagrożenia dla zdrowia ludzi, wynikającego z obecności oocyst *Cryptosporidium* spp. w wodzie.

Zarówno przepisy polskie jak i UE nie podają, jakie należy stosować metody, aby ocenić zagrożenie zdrowia publicznego i jak postępować w celu zredukowania ryzyka związanego z skażeniem wody tymi pasożytami.

Prawnie uregulowane są te zagadnienia w USA, Zjednoczonym Królestwie oraz w Irlandii. W USA od 2006 obowiązują przepisy wydane przez EPA (US EPA Long Term 2), które zalecają, aby za podstawę oceny ryzyka przyjmować koncentrację oocyst *Cryptosporidium* w wodzie surowej. Przepisy ustanowione na Wyspach Brytyjskich zalecają, aby podstawą oceny było monitorowanie wody uzdatnionej.

Z uwagi na niską koncentrację oocyst *Cryptosporidium* w wodzie należy stosować odpowiednie metody monitorowania. Zalecane metody są przedmiotem wytycznych US EPA, DWI, EPA (Irlandia) oraz norm US EPA 1622:2005, US EPA 1623:2005 oraz ISO 15553:2006.

Przedmiotem referatu będą metody oceny ryzyka dla zdrowia ludzi, wynikające z obecności w wodzie oocyst *Cryptosporidium* spp. oraz metody monitorowania jakości wody zalecane w wytycznych WHO, przepisach US EPA i przepisach państw europejskich (Anglii i Walii oraz Irlandii) oraz w odnośnych normach.