

## **САНИТАРНЫЙ КОНТРОЛЬ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**Гильванова Эльвира Рашитовна**

канд. мед.наук, доцент кафедры Общей биологии Стерлитамакский филиала Башкирский государственный университет, РФ, г. Стерлитамак

**Фаттахова Радмила Рустамовна**

студент, Стерлитамакский филиал Башкирский государственный университет, РФ, г. Стерлитамак

### **Sanitary control of environmental objects**

***Elvira Gilvanova***

*Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Chair of General Biology, Sterlitamak Branch, Bashkir State University, Russia, Sterlitamak*

***Radmila Fattakhova***

*student, Sterlitamak branch of the Bashkir state University, Russia, Sterlitamak*

**Аннотация.** Изучение обсемененности простейшими объектов окружающей среды детских дошкольных учреждений г. Стерлитамак. Для контроля санитарного состояния объектов окружающей среды нами был проведен отбор почв детских дошкольных учреждений в 5 районах (северной, восточной, западной и южной частей) города Стерлитамак. При микроскопическом исследовании 50 образцов почв, положительных цист простейших не было обнаружено. Необходимо диагностировать простейших молекулярно-клеточными методами для устранения пробелов в изучении влияния протозойных инвазий.

**Abstract.** The study of protozoa contamination of environmental objects of preschool institutions, Sterlitamak. For the control of sanitary state of environment objects, we have conducted soil sampling of kindergartens in 5 regions (Northern, Eastern, Western and southern parts) of the city of Sterlitamak. Microscopic examination of 50 samples of soils, positive cysts of protozoa was found. You need to diagnose the simplest of molecular and cellular techniques to address gaps in studying the impact of protozoan infestations.

**Ключевые слова:** лямблиоз; г. Стерлитамак; полимеразная цепная реакция; *Giardia lamblia*.

**Keywords:** giardiasis; Sterlitamak; polymerase chain reaction; *Giardia lamblia*.

Вследствие ухудшения экологической обстановки, психологического стресса, связанного с несбалансированным питанием, включающего дефицит витаминов и микроэлементов,

прогрессивного увеличения хронической патологии, широкого применения различных лекарственных средств все чаще происходят нарушения адаптационных процессов, и многие известные заболевания меняют свою клиническую картину. Это относится к заболеваниям, возбуждаемыми различными простейшими, в частности, лямблиями [4, с. 50].

Результаты эпидемиологических исследований распространенности лямблиоза крайне вариабельны и пребывают в зависимости от возраста, территории и экономических условий проживания исследуемого населения, сезона, качества воды, а также от применяемых диагностических методов. Лямблии распространены во всех частях света. По данным ВОЗ, ежегодно фиксируется до 40 тыс. случаев лямблиоза, заболевают в большей степени дети.

В соответствии с многочисленными исследованиями, паразитарные инвазии и заболевания содействуют наиболее интенсивному возникновению соматических и обострению хронических заболеваний, проявляя многоплановое воздействие на организм хозяина, в том числе на его иммунную систему. Среди зарубежных публикаций встречаются работы, анализирующие риск развития при паразитозах аллергических заболеваний: астмы, атопического дерматита, пищевой аллергии. В последние десятилетия во всем мире наблюдается значительный рост распространенности аллергических заболеваний среди всех возрастных групп. Особенно высокие темпы этого процесса отмечаются в детском возрасте [2, С. 30 - 32].

Цель исследования: Изучение обсемененности простейшими объектов окружающей среды детских дошкольных учреждений г. Стерлитамак.

**Материалы и методы.** Для контроля санитарного состояния объектов окружающей среды нами был проведен отбор почв детских дошкольных учреждений в 5 районах (северной, восточной, западной и южной частей) города Стерлитамак.

Отбор проб осуществлялся согласно ГОСТ "Общие требования к отбору проб почвы" [1]. При контроле санитарного состояния почв территорий детских учреждений и игровых площадок отбор проб проводился отдельно из песочниц с глубины 0 - 10 см. Пробы почвы отбирали на каждом из участков в его пяти точках по диагонали или по "конверту" (четыре точки по углам и одна в центре). Размер пробной площадки не более 5 x 5 м.

Отобранные пробы пронумеровали и зарегистрировали в журнале, указав: порядковый номер и место взятия пробы, рельеф местности, тип почвы, целевое назначение территории, вид загрязнения, дату отбора

Для выявления цист простейших в отобранных образцах использовали метод Романенко. Из объединенной пробы взяли 4 порции по 25 г почвы, поместили их в центрифужные пробирки объемом 250 мл и залили 3 %-ным раствором натриевой щелочи. Содержимое пробирок тщательно размешали, отстояли в течение 20 - 30 мин. и центрифугировали 5 мин. при 800 об./мин. Надосадочную жидкость слили, почву промыли водой до получения прозрачной надосадочной жидкости.

После промывки к почве добавили насыщенный раствор нитрата натрия. Почву тщательно размешали, полученную смесь центрифугировали. Пробирки установили в штатив, долили тем же насыщенным раствором соли до уровня на 2 - 3 мм ниже краев пробирок и накрыли предметным стеклом. Яйца гельминтов всплыли и сконцентрировались в поверхностной пленке насыщенного раствора. На предметные стекла с поверхностной пленкой нанесли 1 - 2 капли 30 %-ного раствора глицерина, накрыли их покровными стеклами, а затем микропипетировали с добавлением 1%-ного раствора Люголя.

**Результаты и их обсуждение.** При микроскопическом исследовании 50 образцов почв, положительных цист простейших не было обнаружено.

Это обусловлено тем, что данный метод диагностики протозойных инвазий с помощью нативного мазка и мазка с раствором Люголя характеризуется низкой чувствительностью, малоэффективностью и трудностью микроскопической идентификации [11, Р. 469 - 473].

С учетом изложенного возникает необходимость диагностики простейших молекулярно-клеточными методами для устранения пробелов в изучении влияния протозойных инвазий [14, P. 659 -660].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) произвела революцию в паразитологии и нашла широкую область применения. Данный метод позволяет произвести прямое обнаружение инфекционного агента в любой биологической среде [13, P. 105 - 110]. Принципиальной особенностью требований к ПЦР в санитарной паразитологии является необходимость количественных данных, для получения которых необходимы соответствующие ДНК-мишени [16, P. 150-166]. Показана возможность детекции *G.lamblia* методами гибридизации при использовании в качестве мишени родоспецифичного гена рРНК малой субъединицы рибосом [5, P. 927 - 931]. Определенные трудности внедрения ПЦР были связаны с дифференцировкой жизнеспособных вариантов простейших [12, P. 237-243], представляющих инфекционную опасность. Указанное удалось преодолеть использованием в качестве мишени термоиндуцируемых генов - *hsp70* [6, P. 324 - 328] и бета-гиардина [15, P. 3456 - 3461] *G.lamblia*. Имеется опыт дифференцировки жизнеспособных простейших по транскрипционной активности и наличию мРНК гена бета-гиардина, однако, неудачный ввиду низкой специфичности [8, P. 2728-2738]. Определенные перспективы связывают с разработкой модификации ПЦР с обратной транскрипцией в формате *real-time* [7, P. 3175-3184].

**Заключение.** Полимеразная цепная реакция в настоящее время является одним из наиболее результативных диагностических инструментов индикации и идентификации фрагментов геномов возбудителей инфекционных и паразитарных болезней, а также изучения целых геномов различных патогенов паразитарной природы.

Имеются разнообразные модификации ПЦР диагностики. Наиболее распространенный вариант ПЦР предусматривает использование праймеров, комплементарных специфической последовательности ДНК, характерный для строго определенного вида.

Таким образом, в настоящее время для разработки новой методологии санитарно-паразитологических исследований объектов окружающей среды на *Giardia lamblia* существуют требуемые предпосылки. Дополнение существующей лабораторно-инструментальной базы новыми амплификационными методами позволит повысить эффективность лабораторной составляющей диагностической подсистемы эпидемиологического надзора за протозойными инвазиями.

#### **Список литературы:**

1. ГОСТ 25336-82. "Общие требования к отбору проб почвы".
2. Ершова И. Б., Мочалова А. А., Лохматова И. А., Луганский государственный медицинский университет, кафедра педиатрии с детскими инфекциями. Аллергические реакции при паразитозах у детей, 2014 г., №33. - С. 30 -32.
3. Зорина, В. В. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР): методическое пособие / В. В. Зорина. - М. : ДНК-технология, 2012. - 80 с.
4. Култанов Б. Ж., Кислицкая В. Н., Есильбаева Б. Т., Джангильдинова С. А., Калиева Г. Т., Татина Е. С., «Карагандинский государственный медицинский университет», Современные подходы в методах диагностики лямблиозной инвазии, 2015. - №4. - 50 с.
5. Abbaszadegan M., Gerba C. P., Rose J. B. Detection of *Giardia* cysts with a cDNA probe and application to water samples. *Applied Environmental Microbiology*. - 1991; 57: 927-931.
6. Abbaszadegan M., Huber M. S., Gerba C. P., Pepper I. L. Detection of viable *Giardia* cysts by amplification of heat shock induced mRNA. *Applied Environmental Microbiology*. - 1997; 63: 324-328.

7. Baque R. H., Gilliam A. O., Robles L. D., Jakubowski W., Slifko T. R. A real-time RT-PCR method to detect viable *Giardia lamblia* cysts in environmental waters. *Water research*. - 2011; 45 (10): 3175-3184.
8. Bertrand I., Maux M., Helmi K., Hoffman L., Schwartzbrod J., Cauchie H. M., Quantification of *Giardia* transcripts during in vitro excystation: interest for estimation of cyst viability. *Water Research*. - 2009; 43: 2728-2738.
9. *Clinical applications of PCR: methods in molecular biology* / Y. M. Dennis Lo - NY: Humana Press, 2010. - 216 p
10. De Almeida M. M., Arede C., Marta C. S., Pinto P. L., Daniel I., Peres I., Nogueira J. A., Pinto J. R. Atopy and enteroparasites // *Allergie et Immunologie*. - 1998. - Vol. 30, № 9. - P. 291-294.
11. Epidemiology and serology of *Giardia lamblia* in a developing country: Bangladesh / R. H. Gilman et al. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* - 1985. - V. 79. - P. 469 - 473.
12. Fontaine M., Guillot E. Study of 18S rRNA and rDNA stability by real-time RT-PCR in heat-inactivated *Cryptosporidium parvum* oocysts. *FEMS Microbiol. Lett.* - 2003; 226: 237-243.
13. *Giardia lamblia*: comparison of two diagnostic methods and evaluation of response to treatment with metronidazole / N. M. Guerreiro et al. // *Gen.* - 1991. - V. 45 (2). - P. 105 - 110.
14. Lynch N. R. Parasite infections the risk of asthma atopy // *Thorax*. - 1999. - Vol. 54. - P. 659-660.
15. Mahbubani M. H., Bej A. K., Perlin M., Schaefer F. W., Jakubowski W., Atlas R. M. Detection of *Giardia* cysts by using the polymerase chain reaction and distinguishing live from dead cysts. *Applied Environmental Microbiology*. - 1991; 57: 3456-3461.
16. Wiedenmann A., Kruger P., Botzenhart K. PCR detection of *Cryptosporidium parvum* in environmental samples—a review of published protocols and current developments. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* -1998; 21: 150-166