

Možnosti odstraňovania oocýst *Cryptosporidium parvum* z pitnej vody, mlieka a jablkovej šťavy

JANA PETRÍKOVÁ - IVAN JÁNYI - LÍVIA TÓTHOVÁ - PETER SIEKEL

SÚHRN. Sledoval sa vplyv dvoch typov náplňovej filtrácie na izoláciu oocýst *Cryptosporidium parvum* z pitnej vody, UHT mlieka a z jablkovej šťavy. Výťažnosť oocýst z pitnej vody bola pri použití filtra pre filtráciu malých objemov s veľkosťou pórov 1 μm od 36 % do 67 %, pri použití filtra pre filtráciu veľkých objemov kvapalín s veľkosťou pórov 1 μm od 33 % do 65 %. Výťažnosť z UHT mlieka a jablkovej šťavy bola nižšia. Pri použití veľkoobjemového filtra bola výťažnosť z mlieka v priemere 10 % a z jablkovej šťavy v priemere 16 %. Maloobjemový filter nebol vhodný na filtráciu UHT mlieka, výťažnosť z jablkovej šťavy pri jeho použití bola v priemere 13 %. Na výťažnosť oocýst mal vplyv nielen spôsob separácie, ale aj zloženie kvapalnej fázy.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: *Cryptosporidium parvum*; pitná voda; mlieko; jablková šťava; náplňové filtre; výťažnosť; oocysty

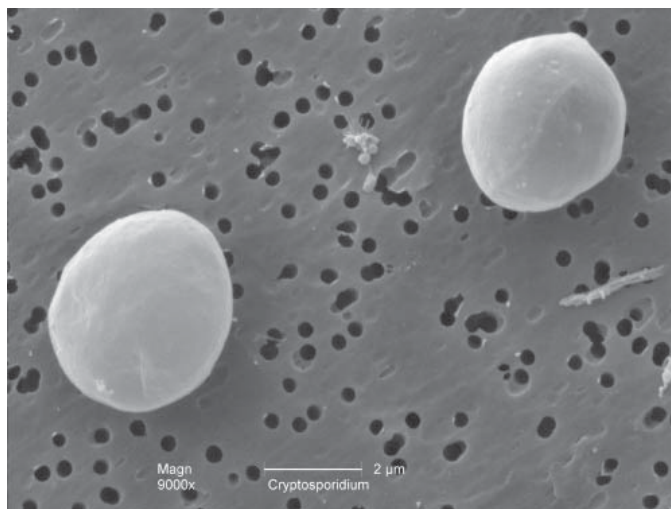
Globálne znečisťovanie životného prostredia má za následok rozširovanie rôznorodých organizmov do prostredia, ktoré nie je ich typickým biotopom. Vo vodnom biotope sa potom môžu prejavovať rôzne. Takto sa do vodného prostredia dostávajú aj patologické bezfarebné bičíkovce, napr. *Cryptosporidium parvum*. Tomuto organizmu sa dnes vo svete venuje vo vodohospodárskej praxi veľa pozornosti. Nielenže patrí k zdravotne nebezpečným organizmom, ale jeho výskyt spôsobuje problémy pri úprave vody na pitnú. V minulosti sa zaznamenalo niekoľko veľkých epidémií v rôznych krajinách sveta, ktoré mali fatálne následky. *C. parvum* patrí k najmenším kokciáliám, veľkosti 2–6 μm (obr. 1). Od ostatných kokciálií

Ing. Jana PETRÍKOVÁ, Mgr. Ivan JÁNYI, Výskumný ústav potravinársky, Štefánikova 45, 900 01 Modra.

RNDr. Peter SIEKEL, Ph.D., Výskumný ústav potravinársky, Priemyselná 4, P.O. box 25, 824 75 Bratislava 26.

RNDr. Lívia TÓTHOVÁ, Ph.D., Výskumný ústav vodného hospodárstva, Nábr. arm. generála. L. Svobodu 5, 812 49 Bratislava.

Korešpondujúci autor: Ing. Jana PETRÍKOVÁ, e-mail: jana.petrikova@stonline.sk



OBR. 1. *Cryptosporidium parvum*

(autor: dr. M. Kalab, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Kanada).

FIG. 1. *Cryptosporidium parvum*

(author: dr. M. Kalab, Agriculture and Agri-Food Canada, Ottawa, Ontario, Canada).

sa líši tým, že napáda teplokrvné živočíchy, kde svoje vývojové štádium prežíva na hostiteľských bunkách ako extracelulárny parazit. Infekčnú formu tvoria oocysty, ktoré sa šíria fekálno-orálnou cestou, predovšetkým vodou, zvieratami, ale aj kontaminovanými potravinami (surové mlieko, nepasterizované ovocné šťavy, ovocie, zelenina, mäso) [1-3]. Zdrojom nákazy môžu byť niektoré domáce a voľne žijúce zvieratá. U rôznych pacientov sa popísala rôzna manifestácia ochorenia: u imunokompetentných pacientov, hlavne u detí, sa opisuje 10–14 dní trvajúce ochorenie sprevádzané vodnatými hnačkami, ktoré môžu byť sprevádzané teplotou, bolesťami brucha a zvracaním. Po ukončení vývojového cyklu prvoka dochádza k spontánnemu uzdraveniu. U imunodeficientných pacientov, hlavne s ochorením AIDS, sa opisujú chronické, úporné, život ohrozujúce vodnaté hnačky s horúčkami, bolesťami brucha, úbytkom hmotnosti a kachektizáciou. Kryptosporídie môžu u takýchto pacientov tiež vniknúť do pľúc, kde potom spôsobujú bronchiálne symptómy. Podľa epidemiologických výskumov sa ukazuje, že organizmy sú infekčné aj v plne sporulovanom štádiu. Laboratórne sa identifikuje priamo v mikroskopickom obraze zo stolice. Infekčná dávka je rôzna, pohybuje sa od 10 do 100 oocýst a závisí od imunitného systému jedinca [4].

Hoci *C. parvum* nie je schopný rásť v potravinách, môže v nich dlhú dobu prežívať, najmä ak majú zvýšenú aktivitu vody. Napr. surové mlieko, surové

párky, vnútornosti, šalát, mušty. Tepelná úprava potravín, 70 °C a čas 2 minúty zabezpečí nielen elimináciu mikrobiálnej flóry, ale i inaktiváciu *C. parvum* [5].

Vo vodohospodárskej praxi sa *C. parvum* dnes venuje veľa pozornosti nielen vo svete, ale aj u nás. Nielenže patrí k zdravotne nebezpečným organizmom, ale je problematický aj z technologického hľadiska úpravy vody na pitnú. Sledovanie výskytu a jeho odstraňovanie z pitnej vody je komplikované v dôsledku nízkej koncentrácie a malých rozmerov. Naopak rezistencia odpočinkového štádia voči chlorácii vody umožňuje jeho prežívanie a detekciu i vo vzorkách, ktoré prešli úpravou [4]. Účinné je ultrafialové žiarenie, ktorého použitie je finančne náročné a pre veľké objemy upravovanej vody v praxi ťažko použiteľné.

Hoci sa publikovalo už mnoho techník izolácie a detekcie *C. parvum* z rôznych typov vôd, izolácia z potravín v kvapalnom stave nie je dostatočne preštudovaná. Pretože sú to organizmy, ktoré sa nedajú v prostredí pomnožiť, je nutné použiť také izolačné postupy, ktoré sú schopné kvapalnú vzorku dostatočne zakonzentrovat'. Následne sa musí použiť detekčná metóda, ktorá bude schopná nízku koncentráciu oocýst *C. parvum* detegovať. V prípade vôd sa najčastejšie používa na izoláciu oocýst náplňová (cartridge) filtrácia v kombinácii s imunomagnetickou separáciou a následnou imunofluorescenčnou mikroskopiou ako detekčnou metódou [6]. Nevýhodou mikroskopických metód je, že sú časovo náročné a vyžadujú si dostatočne skúseného hodnotiteľa. Na druhej strane sa vyvíjajú rýchle detekčné metódy založené na polymerázovej reťazovej reakcii, ktoré sú schopné detegovať aj nízku koncentráciu oocýst vo vzorkách, sú časovo nenáročné a znižujú riziko nesprávnej mikroskopickej identifikácie oocýst. Keďže každý krok separácie prispieva k určitým stratám oocýst počas ich izolácie, je nutné optimalizovať izolačné postupy tak, aby následná detekcia bola schopná stanoviť aj nízke koncentrácie. V našich podmienkach dostupné filtračné metódy používané na izoláciu *C. parvum* z vody sme použili aj na kvapalné potraviny typu mlieka a ovocnej šťavy.

Materiál a metódy

Príprava vzoriek kvapalných matric

Vzorky kvapalných matric sa vybrali na základe predpokladaného prirodzeného výskytu oocýst *C. parvum*, ktoré sa môžu kontaminovať prostredníctvom fekálií infikovaného hovädzieho dobytku. Pitná voda, 100% jablková šťava a trvanlivé nízкотučné mlieko sa zámerne kontaminovali oocystami

C. parvum s koncentráciou $4 \cdot 10^1$, $4 \cdot 10^2$ a $4 \cdot 10^3$ jedincov na 10l kvapalnej vzorky. Desiatkové riedenie sa pripravilo zo zakoncentrovaného čistého izolátu, ktorého počet sa stanovil mikroskopicky použitím Bürkerovej komôrky. Čistý izolát *C. parvum* s koncentráciou $1 \cdot 10^8$ jedincov v 1 ml deionizovanej vody konzervovanej prídavkom antibiotík a antimykotík a uchovávaný pri teplote 4 °C počas 6 mesiacov sa získal z infikovaného hovädzieho dobytká (Parazitologický ústav AV ČR, České Budějovice, Česká republika).

Filtrácia kvapalných matric

Na izoláciu oocýst *C. parvum* z troch typov kvapalných matric sa použili dva typy náplňovej filtrácie:

- filter určený na filtráciu malých objemov kvapalín, maximálne 10l, s veľkosťou pórov 1 μm , účinnou filtračnou plochou 1300 cm^2 a odporúčaným prietokom 2 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ (Gelman Sciences, East Hills, USA),
- filter určený na filtráciu veľkých objemov kvapalín, niekoľko sto až tisíc litrov, s veľkosťou pórov 1 μm a odporúčaným prietokom 3–5 $\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$ (CUNO Europe S.A., Les Attaques, Francúzsko).

Filter určený na filtráciu malých objemov kvapalín je samostatný modul skladajúci sa z plastového puzdra s prietokovou a odtokovou trubicou na koncoch filtračného modulu. Vo vnútri puzdra je umiestnená polypropylénová filtračná náplň. Filter určený na filtráciu veľkých objemov kvapalín predstavuje polypropylénovú filtračnú náplň s plastovým puzdrom, ktorý tvorí súčasť špeciálnej odberovej aparatury.

Izolácia C. parvum z kvapalných matric

Na filtráciu 10l kvapalného média sa použili oba typy filtrov, aby sa overila ich použiteľnosť na dané kvapalné potraviny s následným možným použitím v praxi. Zároveň sa stanovila výťažnosť izolačných postupov pri použití daných typov filtrov. Následná izolácia oocýst z filtrov sa uskutočnila pomocou niekoľkostupňovej centrifugácie, pričom sa vzorka zakoncentrovala z objemu 10 litrov na objem 1 ml.

Izolácia oocýst *C. parvum* z filtra na malé objemy kvapalín sa vykonala bez rozobratia filtra podľa postupu uvedeného v návrhu pripravovanej európskej normy [7].

Pri izolácii oocýst *C. parvum* z filtra na veľké objemy kvapalín sa postupovalo podľa nami navrhnutého postupu. Po prefiltrovaní kvapaliny sa filter, skladajúci sa z vlákien, odmotal a rozdelil na polovicu, do oboch polovic sa pridalo po 1,5l tlmivého roztoku. Potom sa filter ručne prepieral dostatočne dlhý čas (30 minút) a nechal sa vylúhovať 24 h, aby sa oocysty krypto-

sporídií uvoľnili. Po 24 hodinách vylúhovania sa filter dostatočne vyžmýkal a výluh z filtra za zakoncentroval na veľkoobjemovej centrifúge z objemu 3 l v 400ml kyvetách pri 5 000g po dobu 30 minút až na objem 100 ml. Tento proces bol časovo náročnejší a prácnejší. Po centrifugácii sa supernatant odsal pomocou vodnej vývevy. Zo 400 ml pôvodného objemu v jednej kyvete zostalo asi 100 ml. Následne sa tieto menšie objemy znovu centrifugovali v 100ml kyvetách pri 3 000g počas 30 min. Po druhom stupni centrifugácie sa opäť supernatant odsal vodnou vývevou a nasledoval posledný krok centrifugácie pri podmienkach 2 000g po dobu 10 minút v sklených 10ml skúmavkách. Sediment sa fixoval 5% roztokom $K_2Cr_2O_7$. Všetky použité kyvety sa po každom kroku dôkladne vymyli, aby na stenách kyviet a nádob nezostal prichytený infekčný materiál. Takto zakoncentrované vzorky boli pripravené na špecifické farbenie pre stanovenie *C. parvum*.

Stanovenie počtu oocýst C. parvum po izolácii z kvapalných matric

Pre zistenie kvantity sa preparáty vyhodnocovali v natívnom stave ako aj po farbení. Mikroskopicky sa analyzoval kvantitatívne celý objem vzorky, ktorý sa dal na podložné sklíčko v množstve 100 μ l. Na lepšie zviditeľnenie kryptosporídií sa použilo farbenie podľa Miláček-Vítovec [3]. Vzorka sa najprv fixovala metanolom v plameni, následne sa farbila roztokom metyl-violete po dobu 30 minút, potom sa vzorka sa opláchla pod jemným prúdom tečúcej vody. Diferenciácia sa vykonala pomocou 2% kyseliny sírovej, nasledovalo opláchnutie pod jemným prúdom tečúcej vody a dofarbenie preparátu oranžou G alebo 1% tartrazínom v 1% kyseline octovej po dobu 8 min. Nakoniec sa preparát opláchol pod tečúcou vodou. Zafarbené preparáty sa vyhodnotili mikroskopicky s použitím mikroskopu Nikon Eclipse 600 (Nikon Optoteam, Bratislava, SR) s kontrastom DIC (Nomarského kontrast, rozlišovací interferenčný kontrast). Pri zväčšení 10×40 sa použila komôrka CYRUS I (Meopta-optika, Přerov, ČR), ktorá slúži na kvantifikáciu mikroorganizmov v mikroskopickom rozbere vody. Mriežka tejto komôrky má rozmery 10×10 mm a je rozdelená na štvorce a obdĺžniky so stranami 250 μ m a 125 μ m. Pri zväčšení 10×100 sa použila olejová imerzia. Oocysty kryptosporídií sa identifikovali na základe svojho charakteristického sfarbenia a morfológie, veľkosť oocýst sa pohybovala od 3,5 do 6,5 μ m.

Výsledky a diskusia

Táto práca je súčasťou vývoja rýchlej detekčnej metódy na stanovenie *Cryptosporidium parvum* v pitnej vode, v mlieku a v jablkovej šťave založenej

na polymerázovej reťazovej reakcii. Izolácia nízkej koncentrácie oocýst, veľmi malých rozmerov, z veľkého objemu kvapalnej matrice si vyžaduje izolačné postupy s čo najvyššou výťažnosťou.

Vykonalo sa 10 analýz s použitím filtra pre malé filtrované objemy kvapalín a 10 analýz s použitím filtra pre veľké objemy filtrovaných kvapalín, pre 3 rôzne kvapalné matrice o objeme 10l, ktoré boli kontaminované 3 rôznymi koncentraciami oocýst. Počty oocýst po zakoncentrovaní sa kvantifikovali mikroskopicky. Výťažnosť testovaných izolačných postupov pre dané kvapalné matrice je uvedená v tab. 1. Z tabuľky vyplýva, že náplňová filtrácia, ktorá je najčastejšie používanou separačnou metódou na izoláciu oocýst *C. parvum* z vody, dosahuje pomerne vysokú výťažnosť pri oboch náplňových filtroch. Výrobca filtra pre malé objemy uvádza výťažnosť až 91 % na rozdiel od výťažnosti zistenej v našich podmienkach. Nami zistená výťažnosť filtra určeného na malé filtrované objemy kvapalín sa pohybovala od 36 % do 66 %. V prípade filtra pre veľké objemy kvapalín výrobca výťažnosť neuvádza. Nami stanovená výťažnosť sa pohybovala od 35 % do 65 %, čo je pomerne vysoká výťažnosť na rozdiel od výsledkov, ktoré publikovali KFIR a kol. [8]. Tí hodnotili výťažnosť protozoálnych parazitov v pitnej vode použitím filtra pre veľké objemy a ich výťažnosť sa pohybovala v priemere 12,2 % v porovnaní s výťažnosťou 13,4 % filtra založeného na podobnom princípe. Mnohí autori poukazujú na to, že výťažnosť len v malej miere závisí od druhu použitého filtra. To sa potvrdilo aj v našich stanoveniach. Nízke výťažnosti niektorí autori, ktorí sa venujú problematike izolácie a identifikácie oocýst, pripisujú tomu, že 5–30 % oocýst nie je možné zachy-

TAB. 1. Výťažnosť oocýst *C. parvum* z vody, UHT mlieka a jablkovej šťavy použitím dvoch typov náplňových filtrov (n = 10).

TAB. 1. Recovery rates of the oocysts of *C. parvum* from water, UHT milk and apple juice using two types of cartridge filters (n = 10).

Typ kvapaliny ¹	Pitná voda ²		UHT mlieko ³		Jablková šťava ⁴	
Typ filtra ⁵	A	B	A	B	A	B
Koncentrácia inokula (počet oocýst v 10 l) ⁶	Výťažnosť ⁷ [%]					
4.10 ³	66,8	65,6	–	10,3	13,2	14,9
4.10 ²	57,9	37,4	–	8,8	12	14
4.10 ¹	36,3	35,4	–	11,9	15	20

A – filter na malé objemy kvapalín, B - filter na veľké objemy kvapalín.

A – filter for small quantities of liquid, B - filter for large quantities of liquid. 1 - type of liquid, 2 - drinking water, 3 - UHT milk, 4 - apple juice, 5 - type of filter, 6 - concentration of inoculum (oocysts per 10 l), 7 - recovery rate.

tiť na použitých filtroch, 2–30 % zachytených oocýst nie je možné eluovať [9] a že vysoké straty oocýst sú aj počas centrifugácie a prečisťovania [10]. Z týchto dôvodov sme sa pri experimentálnej práci snažili eliminovať straty oocýst spôsobené pri zakoncentrovávaní dostatočným oplachom centrifugačných kyviet, 24 hodinovým eluovaním vlákien filtra pre veľké objemy a ich dostatočným vypieraním. Vytrepávanie vlákien filtra na trepačke Stomacher (Seward, Thetford, Veľká Británia - interný postup v Alcontrol Laboratories, Bradford, Veľká Británia) počas 5 minút sme nepokladali za dostatočný na eluáciu oocýst zachytených na filtri.

Izolácia oocýst *C. parvum* založená na ich zrážaní pomocou CaCO_3 nie je často používaný typ separácie. VESEY a kol. [11] kontaminovali 10l pitnej vody oocystami o koncentrácii $6,08 \cdot 10^2$ oocýst na 1 ml a zrážali ich pomocou CaCO_3 . Nasledovala centrifugácia, farbenie a vyhodnotenie pomocou prietokovej cytometrie. Pomerne vysoká výťažnosť, ktorú daní autori dosiahli, bola v rozmedzí 69–76,9 % ($n=3$). Vyššia výťažnosť oocýst mohla byť spôsobená malým počtom stanovení ($n=3$), vysokým počtom oocýst v malom objeme spracovanej vody ($6,08 \cdot 10^6$ oocýst/10 l). Na rozdiel od nami zistenej výťažnosti použitím náplňovej filtrácie, kedy sa koncentrácia oocýst pohybovala od 40 do 400 v 10 litroch filtrovanej vody. Pomerne vysoká výťažnosť, 75–95,4 %, sa dosiahla i pri použití Fe_2O_3 alebo Al_2O_3 [12]. Preto by sme v ďalšej práci chceli overiť výťažnosť oocýst použitím zrážania pomocou CaCO_3 najmä z objemov s nízkou koncentráciou oocýst. S ohľadom na detekciu *C. parvum* pomocou metódy založenej na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR) by mala byť náplňová filtrácia postačujúca. Zistilo sa, že ak koncentrácia oocýst v 10l kvapaliny bude $4 \cdot 10^2$ a výťažnosť filtra bude len 15 %, izolácia oocýst bude postačujúca na ich detekciu pomocou PCR metódy, ktorú navrhol DENG a kol. [13]. Pri nami získanej minimálnej výťažnosti 15 % by mal 1 ml zakoncentrovanej vzorky pred imunomagnetickou separáciou obsahovať minimálne 60 oocýst. Hoci koncentrácia oocýst pred separáciou, ktorú použili DENG a kol. [13], bola oveľa nižšia (30 oocýst na 100 ml jablkovej šťavy) ako nami získaná koncentrácia po separácii, bola detekcia *C. parvum* pomocou PCR metódy pozitívna [13]. Preto navrhnutý spôsob izolácie oocýst *C. parvum* pomocou náplňovej filtrácie z potravinových kvapalných matríc sa ukazuje ako jeden z možných a dostupných spôsobov izolácie oocýst pred ich samotnou detekciou pomocou PCR metódy.

Nakolko nie sú publikované štúdie o výťažnosti a získavaní oocýst *C. parvum* z iných typov kvapalných matríc, než je voda a najmä z väčšieho objemu kvapalín (viac ako 100 ml), v ďalšej práci bude potrebné zamerať sa na overenie iných typov separácie, než je náplňová filtrácia i s ohľadom na detekciu pomocou PCR metód.

Záver

Medzi patogénne organizmy vyskytujúce sa v pitných vodách a v potravinách predstavujú parazitické prvky, medzi ktoré patrí aj *C. parvum*, zvláštnu skupinu. Napriek tomu, že sa vyskytujú často, bývajú prehliadané a pozornosť sa im venuje až v prípade, keď spôsobujú vážne problémy. Predložená práca sa zamerala na štúdium izolácie oocýst *C. parvum* z potravinových kvapalných matric a pitnej vody v koncentráciach vyskytujúcich sa v reálnych podmienkach s cieľom minimalizovať straty oocýst pri ich izolácii. Z reálne dostupných filtračných postupov sa skúmali dva typy náplňovej filtrácie, pre filtráciu malých objemov, ako aj pre filtráciu veľkých objemov kvapalín. Získané výsledky poukazujú na možnosť využitia daných typov filtrácie pri izolácii oocýst z pitnej vody, mlieka a jablkovej šťavy. Získané izolačné postupy budú súčasťou vyvíjanej detekčnej metódy založenej na polymerázovej reťazovej reakcii na stanovenie *C. parvum* v pitnej vode, mlieku a jablkovej šťave.

Literatúra

1. GARCIA L. S. - BRUCKNER, D. A.: Diagnostic medical parasitology. 2. vyd. Washington, D. C. : American Society for Microbiology, 1993. 764 s.
2. SMITH, H. V. - ROSE J. B.: Waterborne cryptosporidiosis - current status. *Parasitology Today*, 6, 1991, s. 14-22.
3. LABERGE, I. - IBRAHIM, A. - BARTA, J. R. - GRIFFITHS, M. W.: Detection of *Cryptosporidium parvum* in raw milk by PCR and oligonucleotide probe hybridization. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1996, s. 3259-3264.
4. TÓTHOVÁ, L. - ŽIVICOVÁ, Z.: Možnosti použitia alternatívnych testov na stanovenie bičkovcov rodu *Giardia* a *Cryptosporidium*. Záverečná správa Národného referenčného laboratória pre oblasť vôd. Bratislava : Výskumný ústav vodného hospodárstva, 2000. 53 s.
5. IFST: *Cryptosporidium* (Position Statement dated 14 September 1996). *Food Science and Technology Today*, 11, 1997, s. 46-48.
6. HIGGINS, J. A. - TROUT, J. M. - FAYER, R. - SHELTON, D. - JENKINS, M. C.: Recovery and detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts from water samples using continuous flow centrifugation. *Water Research*, 37, 2003, s. 3550-3560.
7. ISO/CD 15553: Water quality - Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water. 21. 9. 2003. (Návrh európskej normy)
8. KFIR, R. - HILNER, C. - DUPREEZ, M. - BATEMAN, B.: Studies evaluating the applicability of utilizing the same concentration techniques for the detection of protozoan parasites and viruses in water. *Water Science and Technology*, 27, 1995, s. 243-252.
9. VESEY, G. - SLADE, J.: Isolation and identification of *Cryptosporidium* from water. *Water Science and Technology*, 24, 1991, s. 165-167.
10. LECHEVALLIER, M. H. - NORTON, W. D.: *Giardia* and *Cryptosporidium* in raw and finished water. *Journal of the American Water Works Association*, 87, 1995, s. 54-68.
11. VESEY, G. - SLADE, J. S. - BRYNE, M. - SHEPHERD, K. - FRICKER, C. R.: A new method

- for the concentration of *Cryptosporidium* oocysts from water. Journal of Applied Bacteriology, 75, 1993, s. 82-87.
12. STANFIELD, G. - CARRINGTON, E. - ALBINET, F. - COMPAGNON, B. - DUMOUTIER, N. - HAMBSCH, B. - LORTHIOY, A. - MEDEMA, G. - PEZOLDT, H. - DE ROUBIN, M. R. - DE LOHMAN, A. - WHITMORE, T.: An optimised and standardised test to determine the presence of the protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* in water. Water Science and Technology, 44, 2000, s. 103-110.
13. DENG, M. Q. - CLIVER, D. O.: Comparative detection of *Cryptosporidium parvum* oocysts from apple juice. International Journal of Food Microbiology, 54, 2000, s. 155-162.

Do redakcie došlo 3. 5. 2005.

**Elimination possibilities of *Cryptosporidium parvum* oocysts
from potable water, milk and apple juice**

PETRÍKOVÁ, J. - JÁNYI, I. - TÓTHOVÁ, L. - SIEKEL, P.:
Bull. potrav. Výsk., 44, 2005, p. 227-235.

SUMMARY. Two types of the cartridge filtration were studied for the recovery of *Cryptosporidium parvum* oocysts from drinking water, UHT milk and from the apple juice. The recovery rate for the oocysts from the drinking water ranged from 36 % to 67 % when a filter for small quantities of the filtered liquid was used (pore size 1 μm), and ranged from 33 % to 65 % when a filter for large quantities of the filtered liquid (pore size 1 μm) was used. The recovery rates for the oocysts from UHT milk and apple juice were lower. When a filter for large quantities of the filtered liquid was used, it was 10 % on average from milk and 16 % on average from the apple juice. The filter for small quantities of the filtered liquid was not suitable for the filtration of UHT milk and when used with the apple juice, a recovery rate of 13 % on average was determined. Recovery rates for the oocysts were influenced not only by the separation technique employed, but also by the composition of the liquid phase.

KEYWORDS: *Cryptosporidium parvum*; drinking water; milk; apple juice; cartridge filters; oocysts; recovery