饮用水生物性污染物快速检测技术研究进展

张秀宇 $^{1,2\#}$, 何 涛 $^{3\#}$, 尹华涛 4 , 裴新荣 5 , 王 超 2 , 姚 杰 6 , 蔡 军 2,6*

- (1. 贵州省分析测试研究院, 贵阳 550000; 2. 北京信睿浩扬科技有限公司, 北京 100070;
- 3. 中国食品药品企业质量安全促进会, 北京 100041; 4. 国家食品质量安全监督检验中心, 北京 100094; 5. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 6. 安徽国泰众信检测技术有限公司, 合肥 230051)
- 摘 要: 饮用水微生物安全问题大多源于细菌、病毒、原生动物和藻类等生物性污染。加强饮用水生物性污染物的检测与监测,防止消费者饮用存在生物性污染的水,对保障饮用水的生物性安全具有十分重要的意义。当前饮用水微生物检测工作中,主要采用国标检测方法对 4 项常规微生物及 2 项非常规微生物指标进行检测,存在指标覆盖不全、耗时较长、操作复杂等不足,难以满足饮用水生物性污染物监测的现实需求。因此,本文重点对饮用水生物性污染物的各种快速检测与筛查技术,如微生物快速测试片检测技术、生物荧光检测技术、流式细胞仪检测技术、PCR 检测技术、等温扩增检测技术、基因芯片检测技术、高通量测序检测技术等进行综述、比较与探讨,以期为饮用水中生物性污染物快速检测与筛查提供适宜的技术参考基础。

关键词: 饮用水; 生物性污染物; 检测技术; 综述比较

Research progress of rapid detection technology of biological contaminations in drinking water

ZHANG Xiu-Yu^{1,2#}, HE Tao^{3#}, YIN Hua-Tao⁴, PEI Xin-Rong⁵, WANG Chao², YAO Jie⁶, CAI Jun^{2,6*}

(1. Guizhou Academy of Testing and Analysis, Guiyang 550000, China; 2. Beijing Xinrui Haoyang Technology Co., Ltd., Beijing 100070, China; 3. China Food and Drug Corporation Quality and Safety Promotion Association, Beijing 100041, China; 4. National Food Quality and Safety Supervision and Inspection Center, Beijing 100094, China; 5. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 6. Anhui Guotai Zhongxin Testing Technology Co., Ltd., Hefei 230051, China)

ABSTRACT: Most incidents of microbial safety in drinking water originate from bacteria, viruses, protozoa and algae. It is of great significance to strengthen biological contaminants detection and monitoring in drinking water and keep consumers away from biologically contaminated drinking water. According to the current national standard, microbial detection of drinking water includes only 4 conventional and 2 nonconventional microbiological indexes, which covers only a small part of detection indexes, requires long time, has complicated operation steps, *etc.* It can hardly meet the actual needs of biological contamination monitoring in drinking. Therefore, this paper mainly focuses on the review, comparison and discussion of rapid detection and screening technologies of biological contaminations in drinking water, such as microbial test slip, ATP bioassay, flow cytometry, PCR detection, nucleic acid isothermal

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFC1603701)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Project (2018YFC1603701)

[&]quot;张秀宇、何涛为共同第一作者。

^{*}ZHANG Xiu-Yu and HE Tao are co-first authors.

^{*}通讯作者: 蔡军, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: caijun@xinruihy.com

^{*}Corresponding author: CAI Jun, Ph.D, Senior Engineer, Beijing Xinrui Haoyang Technology Co., Ltd., Room 807, Building 5, 1 Hangfeng Road, Fengtai District, Beijing 100070, China. E-mail: caijun@x inruihy.com

amplification, gene chip detection, high throughput sequencing and so on, in order to provide a suitable technical reference for rapid detection and screening of biological contaminations in drinking water.

KEY WORDS: drinking water, biological contaminations, detection technology, review and comparison

1 前 言

水是生命的源泉,是人类与一切生物赖以生存的物质基础^[1]。我国是一个缺水国家,人均水资源占有量仅为世界平均水平的 1/4^[2],并且随着工业化和城镇化的进程加快,我国水资源短缺问题将愈加突出^[3]。目前我国水体污染较为严重,饮用水安全面临巨大挑战。饮用水水质优劣与饮用者身体健康和生命安全密切相关,成为影响社会稳定与安宁的重要因素之一^[4]。因此,加强对饮用水的卫生监管及现场处置,确保其符国家相应卫生质量标准,是目前保障饮用水安全最有效的方式之一。

据 WHO 的研究发现,在全世界的不发达国家中,由饮用水不卫生、不安全造成的疾病占全部疾病的 8%^[5]。据统计,1996~2015 年期间我国饮用水污染公共卫生事件达 219 起,其中生物性污染占 39.3%^[6]。相应的,WHO 编制的《饮用水水质准则》第四版明确提出:无论在发达国家还是在发展中国家,饮用水安全问题大多源于微生物污染,并将微生物问题列为首要问题^[7]。因此,充分认识微生物指标对饮用水水质安全的重要性,加强饮用水生物性污染物的检测与监测,防止消费者饮用存在生物性污染的水,对保障饮用水的生物性安全具有十分重要的意义^[8]。

在当前我国饮用水微生物检测工作中,针对 GB 5749-2006《生活饮用水卫生标准》[9]规定的菌落总数、 总大肠菌群、耐热大肠菌群和大肠埃希氏菌 4 项常规微 生物(以下简称"4 项常规微生物")指标及贾第鞭毛虫和隐 孢子虫 2 项非常规微生物(以下简称"2 项非常规微生物") 指标,主要采用基于传统微生物培养及生化鉴定技术和 免疫磁分离及荧光抗体免疫检测技术的国标检测方法进 行。如针对菌落总数微生物指标,采用平皿计数法进行生 活饮用水及其水源水的菌落总数计数检测;针对总大肠 菌群、耐热大肠菌群和大肠埃希氏菌微生物指标指标,采 用多管发酵法、滤膜法和(或)酶底物法进行生活饮用水及 其水源水的相应微生物指标计数检测。国家标准检测方 法具有灵敏度高、结果准确、可重现性高等特点, 较好的 满足了饮用水常规检测的需求。然而,饮用水微生物的国 家标准检测需在洁净环境中进行, 并且涉及的水样处理 设备、玻璃器皿、量具和试剂等都需要无菌处理, 部分还 需要2次培养和分步鉴定,整个检测过程存在操作繁琐、 耗时较长、检测指标单一、成本较高、敏感性和特异性 受限等不足[10]; 此外, 饮用水污染微生物较多, 包括细 菌、病毒、原生动物和藻类等,具有一定的致病性[11],因 此,在基层生活饮用水日常卫生监督、大型活动保障及突发饮用水生物性污染事件等中,常规国标检测方法常常难以满足对饮用水生物性污染物进行快速检测与鉴定、及时出具现场解决方案的迫切需求。因此,研发简便、快速、直观、环境要求低、适用于饮用水水质检测的快速检测技术越来越受到重视。

本文重点对可用于饮用水生物性污染物的快速检测 技术进行综述与探讨,以期为饮用水中生物性污染物快速 检测提供科学依据。

2 饮用水微生物快速检测技术

目前,微生物快速检测技术主要包括微生物快速测试片检测技术^[12-17]、生物荧光检测技术^[18-23]、流式细胞仪检测技术^[24-28]、PCR 检测技术^[29-38]、等温扩增检测技术^[39-44]、基因芯片检测技术^[45-47]、高通量测序检测与筛查技术^[48-51]等。相应检测技术的检测对象、技术特点及适用场景比较如表 1 所示。

2.1 微生物快速测试片检测技术

微生物快速测试片是一种新型微生物快速检测技术, 其工作原理是利用滤纸、冷水可凝胶和无纺布等作为培养 基载体来对微生物进行培育,能够快速且准确的实现微生 物的检测。与传统微生物培养检测方法相比,测试片法具 有检测时间短、成本低等优势,比如 20 世纪 50 年代德国 科学家发明的大肠菌群快速检测纸片法使检测时间缩短 3/4以上,成本仅为原来的 1/4^[12]。在饮用水快速检测中,一 般用于菌落总数、大肠菌群、耐热大肠菌群和大肠埃希氏 菌常规指标的快速检测。

侯秀华等[13]利用3M测试片实现了对膜法水处理系统细菌总数的测定;武利平等[14]研究表明,针对水中菌落总数检测时,测试片法可以作为平皿计数法的替代和补充;许晶[15]研究表明纸片法可以达到快速、准确、简便地检测总大肠菌群的目的,可以用于快速、便捷的检测生活饮用水。同基于传统微生物培养及生化鉴定技术和免疫磁分离及荧光抗体免疫检测技术的国标检测技术相比,微生物快速测试片检测技术对检测环境和专业技能要求不高,试剂耗材方便携带与保存,无需额外试剂和玻璃器皿,不会产生大量实验废物,操作比较简单,缩短了检测时间,因此在饮用水快速检测中得到了一定程度的应用与发展。但是为充分满足饮用水生物性污染物快速检测,仍需要加大针对非常规生物性污染物[16.17],如食源性致病菌、病毒等微生物快速测试片的研究与应用。

表 1 饮用水生物性污染物检测技术技术特点及应用比较表

Table 1 Technical characteristics and application of biological contamination detection technology in drinking water

	**	0	3, 3
	检测对象	技术特点	适用场景
国家标准检测技术	4 项常规微生物及 2 项非常规 微生物指标	准确可靠、耗时长(≥48 h)、 仪器设备成本中等、 试剂耗材成本高、通量低	适用于饮用水常规指标 实验室标准检测应用
快速测试片检测技术	4 项常规微生物及少数 食源性致病菌指标	准确可靠、耗时短(≤24 h)、 仪器设备成本低、 试剂耗材成本低、通量适中	适用于饮用水常规微生物 指标快速检测应用
生物荧光检测技术	菌落总数指标	准确性一般、耗时短(≤10 min)、 仪器设备成本低、试剂耗材 成本中等、通量适中	适用于饮用水菌落总数指标的 现场快速检测应用
基于流式细胞法的检测技术	菌落总数、死/活菌总数指标等	准确性更高、耗时短(≤10 min)、 仪器设备昂贵、试剂耗材成本高、 通量适中	适用于饮用水中微生物总数的 实验室快速检测研究
PCR 检测技术	4 项常规微生物、食源性致病菌、 肠道病毒及原生动物、藻类指标等	准确可靠、耗时短(≤3 h)、 仪器设备成本中等、试剂耗材 成本中等、通量较高	适用于饮用水生物性污染物 指标实验室快速检测与筛查应用
等温扩增检测技术	4 项常规微生物、食源性致病菌、 肠道病毒及原虫、藻类指标等	准确可靠、耗时短(≤1h)、 仪器设备成本中等、试剂耗材 成本中等、通量较高	适用于饮用水生物性污染物指标 现场快速检测与筛查应用
基因芯片检测技术	4 项常规微生物、食源性致病菌、 肠道病毒及原虫、藻类指标等	准确可靠、耗时短(≤48 h)、 仪器设备昂贵、试剂耗材 成本高、通量高	适用于饮用水生物性污染物指标 实验室快速检测与筛查的研究
高通量测序检测技术	近乎全部生物性污染物指标	准确可靠、耗时短(<24 h)、 仪器设备昂贵, 试剂耗材 成本中等、通量高	适用于饮用水生物性污染物(尤其是 未知生物性污染物)指标实验室快速 检测与筛查鉴定的研究与应用

2.2 生物荧光检测技术

生物荧光法是基于萤火虫发光原理开发的一项新型 微生物快速检测技术,即在有氧条件下,荧光素酶催化荧光素底物和 ATP 之间发生氧化反应形成氧化荧光素并能 发出荧光,荧光强度同 ATP 数量呈比例关系,则与微生物数量呈比例关系。目前生物荧光检测法在饮用水微生物快速检测中得到了一定程度的研发与应用,如廖如燕等[18]研究表明 ATP 生物荧光检测法与国标法具有相关性,可应用于现场水质监测快速检测和污染程度评估;曾滔等[19]研究表明 ATP 生物荧光法可与实验室方法相互配合作为口腔治疗用水污染状况现场快速检测和筛查的方法;李培珏等[20]比较研究表明,生物荧光检测法可用于水中微生物的检测,可大大缩短培养周期,且检测结果准确。

在饮用水快速检测中,生物荧光检测法一般用于菌落总数的检测,通过检测荧光信号的强度从而得知样品中对应的菌落总数的数量,具有使操作简便、结果易判、灵敏度高、方便携带、快速高效等特点^[21]。然而,生物荧光检测技术存在受外界影响干扰大、难以实现对饮用水中特定微生物成分的选择性检测、检测结果依赖于准确可靠的校准系数等不足^[22,23],因此在饮用水生物性污染物快速检

测中只能针对菌落总数等特定项目进行研发与应用,具有一定的局限性。

2.3 基于流式细胞的检测技术

流式细胞技术(flow cytometer, FCM)是一种基于检测标记的荧光信号,实现对悬浮于流体中的单细胞或其他生物粒子等高速、逐一的细胞定量分析和分选的生物学检测技术^[24]。在饮用水快速检测中,余辉等^[25]比较流式细胞-ATP 检测法和国标检测法分析饮用水中的微生物含量研究发现,FCM-ATP 检测法要明显优于依赖于培养的国标检测法;林怡雯等^[26]建立了一种 CTC 染色结合流式细胞仪的方法,该方法可满足饮用水水质标准需求,且检测时间比平板培养法缩短 20~40 h,可以用于环境水样中活性细菌总数检测;刘岚^[27]建立了在饮用水微生物检测方面可以有效提高准确度和及时性的 FCM-ATP 检测方法。

相比于国家标准检测法,该方法更加方便快捷,并且能够实现无法培养微生物的检测、检测结果更接近实际微生物数量等,因此被应用于实验室范围的饮用水微生物快速检测研究。然而,FCM 仪器设备价格昂贵、依赖于对检测靶标的有效标记等,目前主要应用于实验室范围的饮用水微生物快速检测研究,并且需要和其它技术,如 qPCR

技术^[28]、高通量测序技术等相结合才能更好的满足饮用水 生物性污染物,特别是非常规生物性污染物的快速检测与 筛查。

2.4 PCR 检测技术

PCR(polymerase chain reaction)技术是模拟生物体 DNA 复制的一类体外 DNA 扩增技术, 在模板 DNA、引物 和4种脱氧核糖核苷酸存在下,依赖于DNA聚合酶的酶促 合成, 实现特定的 DNA 片段的体外扩增和数量指数增长, 在饮用水牛物性污染物检测中得到快速研究与发展。范宏 英等[29]建立了饮用水中5种致病菌多重PCR 检测体系, 应 用于水样分析中可极大的缩短检测时间、降低成本; 冯广 达等[30]利用环境微生物新技术聚合酶链反应变性梯度凝 胶电泳 (polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE) 技术, 实现了对典型农村塘 坝饮用水大肠杆菌的快速检测与溯源; 王青等[31]以7种典 型的水传病原微生物和 4 种抗生素抗性基因作为检测指标, 实现了对九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗 性基因的快速定量 PCR 检测; 韦玉梅等[32]建立了基于 PMA-PCR(propidium monoazide-polymerase chain reaction) 技术的重点流域典型水源地的3种病原病毒快速检测方法; 黄达娜等[33]建立快速检测饮用水腹泻原虫-隐孢子虫卵囊 的巢式 PCR 和实时荧光 PCR 检测体系, 能为监测隐孢子 虫感染的诊治和预防提供有效的技术手段和方法依据。

PCR 技术具有灵敏度高、特异性强、简便快速等特点, 其衍生技术常被用于食品安全的快速检测^[34]。在饮用水快速检测中,基于 PCR 技术的衍生技术,特别是多重 PCR 检测技术、多重实时荧光 PCR 检测技术及数字 PCR 技术,进一步具备同时检测多个目标、成本低廉、污染风险低等优势^[35-38]。随着相关仪器设备小型化、智能化和便携化,检测试剂稳定化、多样化及通用化,检测过程简洁化、快速化和检测结果直观化、数据化等发展,虽然该技术也存在一定不足,如不能区分活/死细胞、微生物感染力难以准确判断、定量检测操作复杂等,但是基于 PCR 的快速检测技术在饮用水食源性致病菌、肠道病毒及肠道原虫等快速高通量检测方面将会得到更为广泛的开发和应用。

2.5 等温扩增检测技术

等温扩增检测技术是近年来发展的一大类核酸快速扩增检测技术。等温扩增技术种类较多,常用的类型主要有环介导等温扩增技术(loop-mediated isothermal amplification method, LAMP)、交叉引物扩增技术(crossing priming amplification, CPA)及等温多自配引发扩增技术(isothermal multiple self-matching-initiated amplification, IMSA)。具有特异性强、等温高效、操作简单、耗时较短、产物易检测及设备要求低等优势,在食品安全检测、临床疾病的诊断、流行性细菌或病毒检测及基因芯片开发等领域得到快速研究

和应用^[39,40]。在饮用水快速检测中,该技术能针对常规微生物指标、食源性致病菌、肠道病毒、肠道原虫及藻类等指标,实现现场快速检测,因此得到了一定程度的研究和应用,如李兰芳等^[41]建立了 LAMP 法检测饮用水中细菌的方法,为饮用水是否存在细菌污染快速检测提供了1种可用的方法; 杨丽^[42]建立了检测3种典型肠病毒 LAMP 方法,可应用于水环境中 3 种典型肠病毒的快速检测; 谷晓红等^[43]建立了适用于快速检测饮用水中大肠杆菌的特异性强、灵敏度高、操作简便的 LAMP 方法。

同基于 PCR 的快速检测技术相比,虽然等温扩增检测技术特异性有所差距,但具有仪器设备要求更低、操作过程更简便、反应耗时更短、产物更易判断等优势,并且与其它技术相结合,如与微流控技术相结合产生的等温扩增微流控芯片检测技术^[44],进一步强化了该技术操作简单、快速高效的优势,因此在饮用水现场快速检测中具有广阔的研发和应用前景。

2.6 基因芯片检测技术

基因芯片技术又称 DNA 微阵列技术, 是上世纪 80 年 代中期提出的一项 DNA 高通量检测技术。其基本原理是 将探针固定于载体上,通过核酸杂交信号的强弱及分布来 实现样品 DNA 的分析。基因芯片技术在应用过程中具有 非常高的灵敏度与特异性, 还具有高通量、集成化及自动 化等优点, 在疾病诊断和治疗、食品卫生监督、农作物的 优选优育、司法鉴定和环境检测等领域得到广泛研究与应 用[45]。在饮用水快速检测中, 该技术能同时针对常规微生 物指标、食源性致病菌、肠道病毒、肠道原虫及藻类等多 项指标, 实现高通量快速定量检测与筛查, 如李君文等[46] 建立了水中常见致病菌基于基因芯片技术的快速检测与鉴 定体系; 王大勇等[47]建立了针对 13 种可能存在于水体中 的致病菌基因芯片检测方法。然而基因芯片技术也存在成 本较高、背景干扰严重、重复性差等问题亟待解决, 因此, 只在饮用水牛物性污染物的高通量快速检测与筛查中得到 一定程度的研究。

2.7 高通量测序检测技术

高通量测序技术是从 2005 年起发展起来 1 次并行对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定的高通量检测技术。具有高准确性、高通量、高灵敏度和低运行成本等特点,并且并不依赖于参考 DNA 序列,在未知 DNA 解析方面优势突出,在遗传分析、疾病诊断、食品安全未知物筛查、种质资源开发和司法鉴定等领域得到了一定程度的研究与开发^[48]。古其会等^[49]综述认为高通量测序技术在饮用水环境微生物群落的多样性研究中具有很大的应用价值;葛英亮等^[50]采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,对臭氧生物活性炭水处理工艺过程各单元出水中细菌多样性及丰度进行了系统性研究; 尹朗等^[51]采用 454 高通量测序技术

对北方 A 和 B 2 实际饮用水管网系统中生物膜细菌群落特征及其对腐蚀的影响进行了研究。

在饮用水快速检测中,该技术能同时针对包括常规微生物指标、食源性致病菌、肠道病毒、肠道原虫及藻类等多项指标进行快速定量检测,并且能够实现对未知生物成分的快速筛查与鉴定^[48],因此,在饮用水生物性污染物的高通量快速检测与筛查鉴定中也在逐步研究与应用。可以预见,随着相关高通量测序仪器的应用方向专业化、测序成本的大幅度降低及测序结果分析的自动化和智能化,基于高通量测序技术的快速检测技术在饮用水生物性污染物,特别是未知生物性污染物,高通量检测与筛查鉴定中将会得到广泛的应用和发展。

2.8 其他检测技术

除以上技术外,还有快速测试板检测技术^[52]、酶底物法 检测技术^[53]等生物性污染物快速检测技术,依据相应技术特 点,在饮用水微生物检测中均有不同程度的研究与应用。

3 结 论

本文对目前发展中的一系列饮用水生物性污染物快速检测技术进行了系统的探讨,总体而言,微生物快速检测技术与传统国标检测技术相比,具有耗时短、环境依赖性低、可靠性好、操作灵活简便等特点。对比发现,快速测试片检测技术、生物荧光检测技术和基于流式细胞法的检测技术在检测和鉴别微生物种类上有一定的局限性,检测生物性污染物的种类少;基于流式细胞法的检测技术和基因芯片检测技术的仪器设备成本昂贵;而 PCR 检测技术、等温扩增检测技术和高通量测序检测技术具有灵敏度高、快速便捷、特异性好的特点。

在大力研发饮用水快速检测技术及产品的基础上, 针对生物性污染物,需重点升级和应用特异性强、灵敏度 高、重复性好、检测快速、检测通量高、结果可靠的 PCR 检测技术、等温扩增检测技术等,并同时加大在饮用水未 知生物性污染物指标快速检测与筛查鉴定中技术优势明显 的高通量测序检测技术的研发投入和技术储备,以便更好 的保障饮用水的水质安全。此外,在实际应用中,还应依 据相应的技术需求和技术特点对不同检测技术进行组合使 用,形成行之有效的饮用水生物性污染物快速检测技术体 系和方案。可以预见,随着饮用水卫生监管的健全及投入 的加大,高通量、微型化、低成本、快速简便、准确高效 的生物性污染物快速检测技术及技术组合将是未来饮用水 检测技术研究与应用的重点发展方向之一。

参考文献

[1] 吴函纯. 浅析我国水资源可持续发展的现状[J]. 国土与自然资源研究, 2019, (3): 5-6.

Wu HC. Research on the sustainable development of water resources in

- China [J]. Territ Nat Res Study, 2019, (3): 5-6.
- [2] 周燕, 商平平. 污水治理行业研究报告[J]. 现代商贸工业, 2018, 39(26): 26-27
 - Zhou Y, Shang PP. Research report on sewage treatment industry [J]. Mod Busin Trade Ind, 2018, 39(26): 26–27.
- [3] Xu K, Bin L, Xu X. Assessment of water resources sustainability in mainland China in terms of water intensity and efficiency [J]. Environ Manage, 2019, 63(3): 309–321.
- [4] 袁海峰,赵晓宇. 饮用水资源现状及饮用水净化技术研究进展[J]. 黑龙江科学, 2016, 7(2): 138-139.
 - Yuan HF, Zhao XY. Current situation of drinking water resources and research progress of drinking water purification technology [J]. Heilongjiang Sci, 2016, 7(2): 138–139.
- [5] 曲良娇. 某省饮用水微生物安全状况与风险评估[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
 - Qu LJ. Microbiological safety status and risk assessment of drinking water in a province [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2016.
- [6] 谈立峰,褚苏春,惠高云,等. 1996-2015 年全国生活饮用水污染事件 初步分析[J]. 环境与健康杂志, 2018, 35(9): 827-830.
 - Tan LF, Chu SC, Hui GY, et al. Preliminary analysis of national drinking water pollution incidents from 1996 to 2015 [J]. J Environ Health, 2018, 35(9): 827–830.
- [7] 李宗来,宋兰合. WHO《饮用水水质准则》第四版解读[J]. 给水排水, 2012 38(7): 9-13
 - Li ZL, Song LH. Interpretation of the guidelines for drinking-water quality (fourth edition) issued by World Health Organization [J]. Water Wastewater Eng., 2012, 38(7): 9–13.
- [8] 李秀年,黄玉玲. 生活饮用水中的微生物检验探究[J]. 临床医药文献 电子杂志, 2015, 2(31): 6549-6549.
 - Li XN, Huang YL. Study on microbial testing in drinking water [J]. J Clin Med, 2015, 2(31): 6549–6550.
- [9] GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S].
 - GB 5749-2006 Standards for drinking water quality [S].
- [10] 张维娜. 生活饮用水微生物检验方法和评价标准探讨[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(60): 32-32.
 - Zhang WN. Discussion on microbial testing method and evaluation criteria for drinking water [J]. World Latest Med Inform (Elect Version), 2015, 15(60): 32–32.
- [11] 何晓青,程莉,朱轶等. 饮用水中病原微生物检测方法与评价标准[J]. 黑龙江农业科学,2010,7:111-113.
 - He XQ, Cheng L, Zhu Y, *et al.* Progress in monitoring approaches and criteria for the waterborne pathogens in drinking water [J]. Heilongjiang Agri Sci, 2010, 7: 111–113.
- [12] 王佳男, 肖茜文, 王艳蕊, 等. 食品微生物测试片的研究进展[J]. 食品 安全质量检测学报, 2016, 7(2): 701-705.
 - Wang JN, Xiao QW, Wang YR, *et at*. Research progress of food microorganism test slip [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(2): 701–705.
- [13] 侯秀华,万国晖,杨永强,等. 3M 测试片法在膜法水处理技术中的应用 [J]. 化工环保, 2014, 34(2): 137–140.
 - Hou XH, Wan GH, Yang YQ, et al. Application of 3M petrifilm method in membrane technology for water treatment [J]. Environ Prot Chem Ind, 2014, 34(2): 137–140.

2511-2515

- [14] 武利平, 丁珵, 孙宗科. 水中菌落总数检测方法的等效性判定[J]. 环境与健康杂志, 2017, 34(3): 246-248.
 - Wu LP, Ding C, Sun ZK. Equivalence test between trial method and reference method of the total number of colonies in water [J]. J Environ Health, 2017, 34(3): 246–248.
- [15] 许晶. 纸片法快速检测生活饮用水中总大肠菌群的探讨[J]. 临床检验 杂志(电子版), 2017. 6(1): 109-110.
 - Xu J. Study on rapid detection of total coliform bacteria in drinking water by paper strip method [J]. Clin Lab J (Elect Edit), 2017, 6(1): 109–110.
- [16] 谢雪钦. 4 种不同方法检测审核样本中沙门氏菌的比较研究[J]. 食品科技, 2015, 40(4): 381–384.
 - Xie XQ. A comparative study on 4 different methods in detection of Salmonella from measurement audit sample [J]. Food Sci Tech, 2015, 40(4): 381–384.
- [17] 李里. 测试片用于食品卫生微生物检测中的效果分析[J]. 食品安全导刊, 2017, 33: 86-87.
 - Li L. Analysis of the effect of test strip in the detection of microorganisms in food hygiene[J]. Chin Food Saf Maga, 2017, 33: 86–87.
- [18] 廖如燕, 陈胤瑜, 华志涛, 等. ATP 生物荧光检测法快速检测水细菌污染的评价[C]. 中国国境卫生检疫学术大会, 2011.
 - Liao RY, Chen YY, Hua ZT, *et al.* Evaluation of rapid detection of bacterial contamination in water by ATP biofluorescence detection [C]. Chinese Academic Conference on Frontier Health and Quarantine, 2011.
- [19] 曾滔, 许宝华, 高文静, 等. ATP 生物荧光技术在口腔治疗用水污染状况现场快速检测中的应用初探[J]. 中国卫生监督杂志, 2016, 23(5): 425-431.
 - Zeng T, Xu BH, Gao WJ, *et al.* Application of ATP biofluorescence technology in rapid detection of water pollution in oral therapy [J]. Chin J Health Inspec, 2016, 23(5): 425–431.
- [20] 李培珏, 侯晨晔, 李勇, 等. 荧光快检法用于工艺用水微生物检测的研究[J]. 工业微生物, 2016, 46(1): 42-46.
 - Li PJ, Hou CY, Li Y, *et al.* Detection of microbiological contaminants in process water by fluorescence-based rapid detection method [J]. Ind Microb, 2016, 46(1): 42–46.
- [21] 高红阁,彭芳,俞玲玲,等. ATP 生物发光法在快速检测饮用水菌落总数中的应用[J]. 职业与健康, 2014, 30(10): 1325-1327.
 - Gao HG, Peng F, Yu LL, *et al.* Application of ATP bioluminescence assay in rapid detection of total bacterial count in drinking water [J]. Occupa Health, 2014, 30(10): 1325–1327.
- [22] 彭勃. 微生物检测技术在食品安全中的应用分析[J]. 食品安全导刊, 2016. 36: 37.
 - Peng B. Analysis of Applied microbial detection technology in food safety [J]. China Food Saf Magaz, 2016, 36: 37.
- [23] 尹祎淳. ATP 生物荧光检测技术在特定快速微生物检测中的新应用[J]. 食品安全导刊, 2017, 6: 114.
 - Yin WC. New application of ATP bio-fluorescence detection technology in specific rapid microbial detection [J]. China Food Saf Magaz, 2017, 6:
- [24] 何方洋, 万字平, 贾芳芳, 等. 流式细胞仪在检测食品中微生物的应用研究[J]. 山东畜牧兽医, 2016, 37(8): 82-84.
 - He FY, Wan YP, Jia FF, et al. Application of flow cytometry in food microorganisms detection [J]. Shandong J Ani Sci Veter Med, 2016, 37(8): 82–84.

- [25] 余辉, 马丽丽, 毛冠男, 等. 饮用水微生物的安全快速检测[J]. 微生物 学通报, 2012, 39(8): 1171–1178.
 - Yu H, Ma LL, Mao GN, et al. Fast and safety detection of drinking water in respect of microbial quality [J]. Microb Chin, 2012, 39(8): 1171–1178.
- [26] 林怡雯, 杨天, 李丹, 等. 基于 CTC-流式细胞仪活性细菌总数的快速 检测技术研究[J]. 环境科学学报, 2013, 33(9): 2511–2515. Lin YW, Yang T, Li D, et al. Rapid detection of viable bacteria by integrated CTC (5-Cyano-2, 3-ditoyl tetrazolium chloride) dying and flow cytometry assay (CTC-FCM) [J]. Acta Sci Circumst, 2013, 33(9):
- [27] 刘岚. 饮用水微生物安全快速检测分析[J]. 中国保健营养, 2017, 27(28): 341-342.Liu L. Rapid detection and analysis of microbial safety in drinking water
- [28] 王明星, 柏耀辉, 梁金松, 等. 应用 FCM-qPCR 方法定量检测水中常见病原体[J]. 环境科学, 2016, 37(1): 384-390.

[J]. Chin Health Care Nutri, 2017, 27(28): 341-342.

- Wang MX, Bo YH, Liang JS, et al. Application of FCM-qPCR to quantify the common water pathogens [J]. Environ Sci, 2016, 37(1): 384–390.
- [29] 范宏英, 吴清平, 吴若菁, 等. 饮用水中 5 种致病菌多重 PCR 技术检测研究[J]. 微生物学通报, 2005, 32(3): 102-107.
 - Fan HY, Wu QP, Wu RJ, *et al.* Study on detection of five-kinds of pathogenic bacteria in drinking water by multiplex-PCR [J]. Microb Chin, 2005, 32(3): 102–107.
- [30] 冯广达,邓名荣,郭俊,等. 利用 PCR-DGGE 溯源典型农村塘坝饮用水中的污染[J]. 环境科学学报, 2011, 31(3): 468–475.
 - Feng GD, Deng MR, Guo J, et al. Microbial source tracking of pollution in typical rural pond-drinking water using PCR-DGGE [J]. Acta Sci Circumst, 2011, 31(3): 468–475.
- [31] 王青, 林惠荣, 张舒婷, 等. 九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测[J]. 环境科学, 2012, 33(8): 2685–2690. Wang Q, Lin HR, Zhang ST, et al. Real-time PCR detection and quantification of emerging waterborne pathogens (EWPs) and antibiotic resistance genes (ARGs) in the downstream area of jiulong river [J]. Chin J Environ Sci, 2012, 33(8): 2685–2690.
- [32] 韦玉梅, 王敬琦, 何晓青, 等. 基于 PMA-PCR 法筛查重点流域典型水源地的三种病原病毒 [C]. 海峡两岸水质安全控制技术与管理研讨会,
 - Wei YM, Wang JQ, He XQ, et al. Screening of three pathogenic viruses in typical water sources of key watershed based on PMA-PCR [C]. Seminar on Water Quality Safety Control Technology and Management Across the Taiwan Strait. 2013.
- [33] 黄达娜, 张仁利, 唐屹君, 等. 隐孢子虫 PCR 检测体系的建立及其应用[J]. 中国热带医学, 2016, 16(8): 770-773.
 - Huang DN, Zhang RL, Tang YJ, et al. Establishment and application of PCR method for detection of *Cryptosporidium* [J]. Chin Tropic Med, 2016, 16(8): 770–773.
- [34] 蔡军, 李慧, 欧静堃, 等. 3 种食源性致病菌多重 PCR 检测体系的建立 [J]. 食品科技, 2015, 40(3): 324-329.
 - Cai J, Li H, Ou JK, *et al.* Establishment of multiplex PCR for the detection of three foodborne bacterial pathogens[J]. Food Sci Tech, 2015, 40(3): 324–329
- [35] Chandra S, Saxena T, Nehra S, et al. Quality assessment of supplied drinking water in Jaipur city, India, using PCR-based approach [J].

- Environ Earth Sci, 2016, 75(2): 153.
- [36] Hata A, Katayama H, Furumai H, *et al.* Organic substances interfere with reverse transcription-quantitative PCR-based virus detection in water samples [Π]. Appl Environ Microb, 2015, 81(5): 1585–1593.
- [37] Mccarthy MW, Walsh TJ. PCR methodology and applications for the detection of human fungal pathogens [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2016, 16(9): 1025
- [38] Guo X, Wang S, Zhao C L, *et al*. An integrated cell absorption process and quantitative PCR assay for the detection of the infectious virus in water [J]. Sci Total Environ, 2018, 635: 964–971.
- [39] 尹红果,马小雪,商栩,等. 环境水体中沙门菌环介导等温扩增快速检测方法[J]. 环境与健康杂志, 2013, 30(2): 146–149. Ying HG, Ma XX, Shang X, *et al.* Detection of Salmonella in water bodies

by LAMP rapid method [J]. J Environ Health, 2013, 30(2): 146-149.

- [40] 杨靖, 胡姣姣, 柏先泽, 等. 环介导等温扩增技术在病原微生物快速检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(23): 18–25.

 Yang J, Hu JJ, Bai XZ, et al. Research progress of loop-mediated isothermal amplification technology in rapid detection of pathogenic microorganisms [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(23): 18–25.
- [41] 李兰芳, 潘翊, 凌东辉. LAMP 法用于检测饮用水中细菌污染的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(3): 644–646. Li LF, Pan Y, Ling DH. Study on bacterial contamination in potable water by LAMP [J]. Chin J Health Lab Tech, 2013, 23(3): 644–646.
- [42] 杨丽. 环介导等温扩增技术(LAMP)检测三种典型肠病毒方法的建立 及其在水环境中的应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011. Yang L. Establishment of three typical enterovirus detection methods by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and its application in water environment [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011.
- [43] 谷晓红, 谭晴晴, 刘艳艳, 等. 利用环介导等温扩增技术快速检测饮用水中的大肠杆菌[J]. 山东农业科学, 2017, 49(1): 130–135.

 Gu XH, Tan QQ, Liu YY, *et al.* Rapid detection of escherichia coil in purified water by loop-mediated isothermal amplification technology [J]. Shandong Agri Sci, 2017, 49(1): 130–135.
- [44] 鞠鹤鹏, 戴菁, 谢逸欣, 等. LAMP 微流控芯片快速检测三种食源性致 病菌[J]. 解放军预防医学杂志, 2018, 36(3): 309–313. Ju HP, Dai J, Xie YX, *et al.* Quick detection of three food-borne pathogens by LAMP Micro Fluidic Chip [J]. J Preve Med Chin PLA, 2018, 36(3): 309–313.
- [45] Li X, Gu W, Mohan S, et al. DNA microarrays: their use and misuse [J]. Microcirculation, 2002, 9(1): 13–22.
- [46] 李君文, 晁福寰, 靳连群, 等. 基因芯片技术快速检测水中常见致病菌 [J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36(4): 238–238. Li JW, Chao FH, Jin LQ, et al. Rapid detection of common pathogens in water by gene chip technology [J]. Chin J Prev Med, 2002, 36(4): 238–238.
- [47] 王大勇, 方振东, 谢朝新, 等. 水体中致病菌快速检测的基因芯片技术研究[J]. 解放军医学杂志, 2010, 35(9): 1117–1122.

 Wang DY, Fang ZD, Xie CX, et al. Studies on rapid detection of pathogens in water by gene chip technique [J]. Med J Chin People's Liberat Army, 2010, 35(9): 1117–1122.
- [48] 王兴春,杨致荣,王敏,等.高通量测序技术及其应用[J].中国生物工程杂志,2012,32(1):109–114.

- Wang XC, Yang ZR, Wang M, et al. High-throughput sequencing technology and its application [J]. Chin Biotech, 2012, 32(1): 109–114.
- [49] 古其会,吴清平,张菊梅,等.高通量测序技术在饮用水微生物多样性研究中的应用[C].中国食品科学技术学会第十三届年会论文摘要集, 2016.
 - Gu QH, Wu QP, Zhang JM, et al. Application of high-throughput sequencing technology in the study of microbial diversity in drinking water [C]. Abstracts of Papers at the 13th Annual Conference of the Chinese Food Science and Technology Society, 2016.
- [50] 葛英亮, 于水利, 时文歆,等. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术解析 O3-BAC 饮用水处理过程细菌多样性变化[J]. 食品科学, 2016, 37(16): 223-228.
 - Ge YL, Yu SL, Shi WX, *et al.* Analysis of bacterial diversity in O3-BAC drinking water treatment process by using Illumina MiSeq high throughput sequencing technology [J]. Food Sci, 2016, 37(16): 223–228.
- [51] 尹朗,赵丹,张素佳,等. 饮用水管网生物膜细菌群落特征及其对腐蚀的影响[J]. 环境工程学报, 2016, 10(10): 5453–5458.
 Yin L, Zhao D, Zhang SJ, et al. Characteristics of biofilm bacterial communities in drinking water pipelines and their effects on corrosion [J]. Chin J Environ Eng, 2016, 10(10): 5453–5458.
- [52] 祁燕, 亢卫华. 快速测试板在饮用水微生物检测中的应用[J]. 城镇供水, 2017(3): 51-54.
 Qi Yan, Kang WH. Application of rapid testing board in microbial
 - Q1 Yan, Kang WH. Application of rapid testing board in microbial detection of drinking water [J]. J Chin Urban Water Assoc, 2017(3): 51–54.
- [53] 刘玉红, 景二丹, 胡兴利, 等. 酶底物法与平皿计数法测定水中菌落总数的比较[J]. 中国给水排水, 2017, 33(2): 111–114. Liu YH, Jing ED, Hu XL, *et al.* Comparison of simplate method and plate count method for determination of total bacteria counts [J]. Chin Water

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

Wastewater, 2017, 33(2): 111-114.



张秀宇, 硕士, 工程师, 主要研究方向 为食品安全。

E-mail: 71457587@gg.com



何 涛,硕士,高级工程师,主要研究 方向为食品安全。

E-mail: sche123@163.com



蔡 军,博士,高级工程师,主要研究 方向为食品安全。

E-mail: caijun@xinruihy.com