

1350.0 和 2900.0, $Z(u) = -1.959$, $P = 0.05$; 原水和储水器水总大肠菌群中位数分别为 8.0 和 11.0, $Z(u) = -3.313$, $P = 0.001$, 有统计学差异; 原水和储水器水耐热大肠菌群中位数分别为 8.0 和 9.0, $Z(u) = -3.171$, $P = 0.002$, 有统计学差异。原水和储水器水其余指标之间差异无统计学意义。

3 讨论

本次调查发现, 分散式供水储水器水质菌落总数、总大肠菌群和耐热大肠菌群合格率与原水相比均有所下降, 且储水器水细菌总数合格率明显下降, 与原水相比差异有统计学意义。在对分散式供水原水和储水器水的菌落总数、总大肠菌群和耐热大肠菌群进行进一步分析后发现, 经存放后水的菌落总数、总大肠菌群和耐热大肠菌群明显高于原水。这些指标的严重超标可能与原水未进行消毒有一定的关系, 也可能是由于储水这个环节增加了细菌繁殖的机会。经存放后, 水质会发生一定程度的改变, 尤其是微生物指标改变较为显著, 这可能是影响农村家庭储水卫生的重要方面。现场调查发现, 有 64.8% 的调查用户取水的水源周围 30 m 内有污染源; 22.6% 的用户取水水源没有任何卫生防护措施, 取水后也没有用户对饮用水进行净化处理。用户对储水容器很少清洗,

也没有消毒措施。存在饮用水在储水容器中存放时间过长的情况。这些可能是储水后水质恶化的一些原因。

本次调查表明, 农村分散式供水储水家庭的饮用水水质合格率偏低, 影响饮用水水质因素为饮用水水源污染, 储水器清洗不及时和储水时间过长等, 微生物指标超标最严重, 给介水传染病的发生增加了风险。为全面保证农村饮用水的安全卫生, 为了让农村人口喝上安全卫生的饮用水, 应采取以下措施: ① 农村家庭储水器水储存时间不宜过长, 分散式供水应随用随取, 储水容器应加盖, 经常对储水容器进行清洗消毒, 尽量减少污染环节。② 继续加大饮水安全知识的宣传, 提高饮水安全知识的普及率, 使农村居民意识到家庭储水在饮水安全中存在的不足, 应采取针对性防范措施的重要性。③ 建立完善的集中式供水体系, 加强集中式供水水源、饮用水处理、供水的规范化管理, 逐步减少分散式供水方式供水, 从根本上保证饮用水卫生安全。

4 参考文献

[1] 王晓峰, 蔡建民, 楼晓明, 等. 浙江省某县农村储水家庭饮用水水质调查[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(8): 1619-1620.

(收稿日期: 2009-05-26)

文章编号: 1004-9231(2009)12-0616-02

· 检验技术 ·

快速法检测生活饮用水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫结果分析

沈强, 朱莉勤, 张梦寒, 姜韬 (江苏省苏州市疾病预防控制中心, 江苏 苏州 215004)

贾第鞭毛虫和隐孢子虫(合称两虫)都是原虫类寄生虫, 其中可感染人的主要有肠贾第鞭毛虫和微小隐孢子虫^[1]。由于贾第鞭毛虫和隐孢子虫的卵囊、孢囊的表面包裹着一层较厚的囊壁, 因此, 在环境中具有非常强的抵抗力。常规消毒工艺的氯浓度不能有效灭活隐孢子虫和贾第鞭毛虫, 它们可通过水厂构筑物进入供水管网, 威胁人们健康。美国环保总局 1999 年就开始对原水进行两虫的检测, 中国卫生部在 2006 年 12 月 29 日发布的《生活饮用水卫生标准》(GB5749—2006) 中增加了贾第鞭毛虫和隐孢子虫的微生物指标。要求: <1 个/10 L 水, 规定两虫的回收率需 $\geq 10\%$ ^[2]。我们采用 Filta-Max Xpress 快速法检测两虫, 现对结果进行分析。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备 仪器设备有 Masterflex mode 177601-10 蠕动泵、Filta-Max xpress(tm)-过滤淘洗系统、Hettich Rotanta 460 大容量离心机、Bead Retriever(tm) 全自动微生物磁珠分选系统、德国 Zeiss 荧光显微镜、filta-max xpress 快速过滤模块、BeadRetriver 试管和 tip 头、filta-max xpress 取样和洗脱快速连接装置、filta-max xpress 滤室。

1.1.2 试剂 实际有免疫磁分离试剂盒 Dynabeads GC-Comb(挪威 Dynal 公司)、A100FLK. Aqua-Glo G/C 荧光染色试剂盒、DAPI 染色试剂。缓冲液: 在容器中加入 8 g NaCl、0.2 g KCl、1.44 g Na_2HPO_4 以及 0.24 g KH_2PO_4 溶在 0.9 L 的试剂级水中, 调 pH 值至 7.4, 加 0.1 mL Tween 20 溶液到容器中再搅拌 10 min, 用纯水定容到 1.0 L。

1.1.3 水样 水样来源于本地自来水公司采集的 50 份

作者简介: 沈强(1973—), 男, 学士。

原水和 30 份出厂水。

1.2 方法

1.2.1 过滤和淘洗 因水样中的卵囊数量很少,因此需要浓缩较大体积的水样,一般原水取样 20 L,处理水 100 L。通过蠕动泵将过滤装置(filta-max xpress 快速过滤器)连接到需采样的水源,进行过滤。每个样品准备 400 mL 的缓冲液,打开 500 mL 离心管的盖子,把它放在淘洗系统的离心管支架上,把分流装置连接到滤器上,把滤器连接到压力淘洗装置上,确保缓冲液已经放在缓冲池中,开始洗脱。洗脱结束将离心管盖上盖子从支架上取出进行下一步离心。

1.2.2 离心浓缩 将装有淘洗液样本的 500 mL 离心管置于离心机 2 000 g 离心 15 min,慢慢地减速以免搅起沉淀物,记录沉淀物体积。

1.2.3 免疫磁珠分离 样品离心后吸出上清液,留 3 mL 进行免疫磁珠分离。采用 Bead Retriever(tm)全自动微生物磁珠分选系统将隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫孢囊分离出来,置于玻片上。

1.2.4 染色镜检 玻片放到 42℃ 培养箱内蒸发干,然后用甲醇固定,静置 3~5 min,加入 1 滴 A100 FLK. Aqua-Glo G/C 两虫单克隆抗体染色剂染色和 DAPI 溶液染色,吸去玻片上多余染液,用 PBS(pH 7.4)冲洗玻片,风干,计数并密封。用蓝色滤光片(激发波长 490 nm,发射波长 510 nm)检测 FITC 单抗标记的卵囊,放大倍数为 200~400 倍;DAPI 染色用紫外光滤光片(激发波长 400 nm,发射波长 420 nm)放大 200~400 倍观察。

1.3 计算

① 水样中包囊/卵囊数(个/10L):

$$Y = (X \times W) / (V \times Z) \times 10$$

Y—每 10L 水样中包囊/卵囊的个数;X—玻片井内计数包囊/卵囊的个数;W—水样离心后沉淀物的体积;

V—免疫磁分离取沉淀物的体积;Z—过滤水样的总体积。

② Filta-Max xpress 快速法回收率的测定:用超纯水加标的模拟水样对淘洗离心、免疫磁分离、染色计数 3 个阶段测定(重复 4 次,空白对照 1 次)。

贾第鞭毛虫/隐孢子虫回收率(%) = 回收孢囊/卵囊个数 × 100%

2 结果

2.1 两虫检测结果

本次共检测原水 50 份,出厂水 30 份,其中原水中有 1 份检出贾第鞭毛虫值为 2 个/L。

2.2 回收率

实验各阶段的加标回收率为 4 次平行实验的平均值,结果见表 1。

表 1 Filta-Max xpress 快速法各阶段回收率的检测结果

实验阶段	FMX 快速法平均回收率(%)	
	隐孢子虫孢囊	贾第鞭毛虫卵囊
淘洗离心	42.1	45.2
免疫磁分离	80.1	82.4
染色计数	97.0	98.0
总回收率	35.6	37.8

注:实验中空白对照结果均为 0 个。

3 讨论

实验结果表明,淘洗离心阶段损失孢/卵囊数最多,有效提高回收率的措施为采用自动淘洗装置,离心减速设置勿用制动器,须慢慢减速,以免搅起沉淀物,实验操作中轻拿轻放离心管,吸出上清时的操作要熟练等。免疫磁分离阶段孢/卵囊数损失约为 20% 左右,分析原因,与免疫反应过程的温度和控制,免疫磁珠和卵/孢囊抗原是否充分结合及其提纯程度,解离后卵/孢囊的转移操作技术等因素有关。染色计数阶段回收率的影响一是和免疫荧光染色试剂盒和 DAPI 染液的质量有关,所以应进行阳性对照和阴性对照的染色观察,二是计数误差,可采取多人同时计数以减少人为误差。

生活饮用水 106 项指标,按照要求 2012 年全部开展,目前由于两虫检测要求的仪器设备条件比较高,江苏省内疾控系统苏州还是第一家采用 Filta-Max xpress(r)快速法进行两虫检测的单位。Filta-Max xpress(r)快速法虽然作为检测的第 3 种方法,但是在淘洗阶段全过程仅需 2 min,相对于 Filta-Max 法和 Envirochek HV 法分析隐孢子虫和贾第鞭毛虫,Filta-Max xpress 快速法将显著提高样品处理量,同时减少劳动量,有效提高回收率。我国现行的《生活饮用水标准检验方法》GB/T 5750—2006 中规定两虫的回收率需 ≥ 10%,本方法的平均回收率都超过了 35%,表明本实验室的技术成熟,该方法所使用的设备功能正常,试剂有效。Filta-Max xpress 快速法可广泛应用于各种水质的两虫检测。

4 参考文献

- [1] 余贵英,蔡承铿,刘汝青,等. 水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫检测方法的探讨[J]. 中国卫生检验杂志,2004,14(5):550.
- [2] 李霞,尹宝国,孙宗科,等. FMx 和 Evn 法检测水中隐孢子虫和贾第虫分步回收率的影响因素初步探讨[J]. 卫生研究,2008,37(4):486.

(收稿日期:2009-06-18)