

饮用水中病毒的富集和检测技术概述

张 晓¹, 高圣华¹, 金 敏², 张 岚¹

(1. 中国疾病预防控制中心 环境与健康相关产品安全所, 北京 100050; 2. 军事科学院军事医学研究院 环境医学与作业医学研究所, 天津 300050)

摘 要: 介绍了近年来国内外介水传播病毒在各种水体中的存在水平, 简单介绍了国内外有关水中病毒的控制要求及其标准检测方法, 对饮用水中病毒的富集浓缩及细胞培养、分子生物学等检测方法进行了概述, 并提出了水中病毒检测的发展方向, 以期建立饮用水中病毒的检测方法, 开展健康风险评估提供技术支持。

关键词: 饮用水; 病毒; 富集; 检测技术

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2020)08-0050-06

Overview of Virus Enrichment and Detection Techniques in Drinking Water

ZHANG Xiao¹, GAO Sheng-hua¹, JIN Min², ZHANG Lan¹

(1. National Institute of Environmental Health, China CDC, Beijing 100050, China; 2. Institute of Environmental & Operational Medicine, Academy of Military Sciences, Tianjin 300050, China)

Abstract: This paper introduced the existence levels of water-borne virus in various water bodies at home and abroad in recent years, and analyzed the control requirements and standard detection methods of virus in water. This paper also summarized the enrichment and detection methods such as cell culture and molecular biology in drinking water, and put forward the development direction of virus detection in water in order to provide technical support for establishing detection methods for viruses in drinking water and development of health risk assessments.

Key words: drinking water; virus; enrichment; detection techniques

2019年12月武汉出现新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疫情, 2020年1月疫情蔓延至全国。有研究在COVID-19患者粪便和尿液中检出新型冠状病毒(SARS-CoV-2), 粪口传播的可能性引起广泛关注。长期实践表明, 人类和动物的粪便是环境水体乃至饮用水微生物污染的主要途径。病毒经水传播进入人体, 达到致病剂量后可导致胃肠炎、腹泻、痢疾、肝炎等多种疾病的发生, 严重者可能危及生命。因此对环境水体及饮用水中的病毒进行检测, 了解其浓度水平, 对于准确评估其健康风险并进一步采取有效的控制措施尤为重要。

1 水环境中病毒污染情况

病毒在自然界分布广泛, 影响重大, 主要通过呼吸道、消化道、皮肤和密切接触等途径侵入机体。水是病毒传播的重要途径之一, 目前已发现700余种病毒可介水传播^[1]。

自20世纪80年代以来肠道病毒、轮状病毒、甲型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、诺如病毒、星状病毒、腺病毒等都有介水传播而致病的案例, 发达国家和发展中国家都有疫情事件的发生, 感染人数从几人至十余万人。大多数病毒经水传播引发的疫情暴发是由于原水受到污染且未经处理或未经充分处理而造

成的,也有因为管网交叉连接、污染物入侵而引起 体甚至饮用水中检出肠道病毒、轮状病毒、诺如病毒的。实际上早有多项国内外的研究在河水等环境水 等^[2-8],详见表 1。

表 1 介水传播病毒在水中的检出情况

Tab.1 Detection of water-borne virus in water

病毒名称	发生时间	发生地点	水体类型	检测方法	阳性率/%	浓度范围
肠道病毒 (EV)	2010 年—2011 年	中国武汉	水源水	RT-qPCR	46	$(3.42 \pm 0.92) \times 10^3 \sim (7.95 \pm 1.18) \times 10^3$ 拷贝/L
	2010 年—2011 年	中国武汉	出厂水	RT-qPCR	21	$(1.05 \pm 0.30) \times 10^2 \sim (4.85 \pm 0.91) \times 10^3$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	长江水源水	RT-qPCR	50	$0 \sim 7.95 \times 10^3$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	汉江水源水	RT-qPCR	42	$0 \sim 5.56 \times 10^3$ 拷贝/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(海河天津段)	RT-qPCR	39.6	$0 \sim 8.18 \lg$ GC/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(津河)	RT-qPCR	45.8	$0 \sim 7.20 \lg$ GC/L
	2015 年—2016 年	尼泊尔	河水	RT-qPCR	72	$0 \sim 7.5 \lg$ 拷贝/L
	2016 年	中国德州	水源水	RT-qPCR	3.85	$0 \sim 22.8$ 拷贝/L
轮状病毒 (RV)	2010 年—2011 年	中国武汉	水源水	RT-qPCR	100	$(4.84 \pm 0.45) \times 10^3 \sim (9.34 \pm 1.69) \times 10^4$ 拷贝/L
	2010 年—2011 年	中国武汉	出厂水	RT-qPCR	100	$(1.44 \pm 0.22) \times 10^2 \sim (2.23 \pm 0.08) \times 10^4$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	长江水源水	RT-qPCR	100	$6.91 \times 10^3 \sim 1.11 \times 10^5$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	汉江水源水	RT-qPCR	100	$4.84 \times 10^3 \sim 4.52 \times 10^4$ 拷贝/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(海河天津段)	RT-qPCR	72.9	$0 \sim 5.96 \lg$ GC/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(津河)	RT-qPCR	70.8	$0 \sim 6.02 \lg$ GC/L
	2015 年—2016 年	尼泊尔	河水	RT-qPCR	16.7	$0 \sim 5.0 \lg$ 拷贝/L
戊型肝炎病毒 (HEV)	2013 年	菲律宾	河水	RT-PCR	25	—
诺如病毒 (NV)	2012 年—2016 年	中国天津	河水(海河天津段)	RT-qPCR	81.3	$0 \sim 6.11 \lg$ GC/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(津河)	RT-qPCR	81.3	$0 \sim 5.89 \lg$ GC/L
	2015 年—2016 年	尼泊尔	河水	RT-qPCR	27.8	$0 \sim 5.0 \lg$ 拷贝/L
	2015 年—2016 年	尼泊尔	河水	RT-qPCR	61.1	$0 \sim 5.7 \lg$ 拷贝/L
星状病毒 (AstV)	2012 年—2016 年	中国天津	河水(海河天津段)	RT-qPCR	81.3	$0 \sim 7.93 \lg$ GC/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(津河)	RT-qPCR	79.2	$0 \sim 6.79 \lg$ GC/L
腺病毒 (AdV)	2010 年—2011 年	中国武汉	水源水	RT-qPCR	100	$(2.75 \pm 0.20) \times 10^3 \sim (2.20 \pm 1.22) \times 10^6$ 拷贝/L
	2010 年—2011 年	中国武汉	出厂水	RT-qPCR	100	$(3.88 \pm 0.77) \times 10^2 \sim (7.52 \pm 0.63) \times 10^5$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	长江水源水	RT-qPCR	100	$5.54 \times 10^3 \sim 2.20 \times 10^6$ 拷贝/L
	2011 年	中国武汉	汉江水源水	RT-qPCR	100	$2.75 \times 10^3 \sim 1.05 \times 10^6$ 拷贝/L
	2014 年—2015 年	中国台湾	河水	RT-巢式-qPCR	34.3	$0 \sim 1.9 \times 10^{11}$ 拷贝/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(海河天津段)	RT-qPCR	93.8	$0 \sim 7.81 \lg$ GC/L
	2012 年—2016 年	中国天津	河水(津河)	RT-qPCR	91.7	$0 \sim 7.00 \lg$ GC/L
	2015 年—2016 年	尼泊尔	河水	RT-qPCR	66.7	$0 \sim 7.7 \lg$ 拷贝/L

2 饮用水中病毒的控制要求及检测方法

目前,世界各国对饮用水中病毒的控制要求及检测方法鲜有规定。我国现行《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)中没有规定病毒的卫生限值或控制要求,与之配套的《生活饮用水标准检验方法》(GB/T 5750—2006)中也没有提供相应的标准检测方法。美国饮用水标准中对病毒提出了99.99%去除/灭活的控制要求;由美国公共卫生协会等发布的《水和废水标准检测方法》(第23版)中介绍了水和废水及其悬浮固体中肠道病毒的富集方法及定量检测方法(动物实验和细胞培养—空斑试验),其中提供了三种富集方法:一是用正电荷过滤器或负电荷过滤器等微孔过滤器吸附样品中的病毒(9510B/C);二是用氢氧化铝吸附沉淀病毒(9510D);三是用聚乙二醇富集病毒(9510E)。方法9510B主要适用于污水等介质中肠道病毒的富集,水样体积小于5 L;方法9510C主要适用于饮用水或高纯度净化水中肠道病毒的富集,水样体积最少为400 L,该方法可处理2 000 L或者更大体积的水样;方法9510D则将水样体积控制在几升以内;方法9510E则主要用于对1 L以下水样的富集。方法9510B和9510C中水样富集采用的均是1-MDS过滤器;方法9510D和9510E除用于对小体积样品的处理之外,还可用于对采用9510B和9510C富集浓缩后得到的初级洗脱液中的病毒进行再度浓缩。美国环保局(USEPA)提供了水中肠道病毒和诺如病毒的检测方法(1615),可用于地表水、地下水和末梢水中肠道病毒和诺如病毒的检测,其中地表水的水样体积为360 L(最小体积为300 L),末梢水和地下水的水样体积为1 800 L(最小体积为1 500 L)。水样富集采用的是NanoCeram®过滤器,检测方法为细胞培养法和RT-qPCR法。日本《饮用水试验方法 微生物部分》中也提供了病毒的检测方法,它将DEAE-纤维素膜用于病毒的富集,饮用水或浊度较低的水体水样体积可降为几十升,提供的检测方法为细胞培养法和RT-qPCR法。

通过分析比较发现,以饮用水为例,首先标准化的方法很少,有限的几种方法中对病毒的检测要求又各不相同,尤其是水样体积差异较大,日本方法中要求的最少,最低可降为几十升,USEPA则要求至少为1 500 L(末梢水),分析原因可能是由于选用的富集浓缩技术不同,日本方法中使用的DEAE-纤

维素采用了亲水高分子聚合物,表面又有大分子糖链接枝,使它有更大的比表面积和更好的生物兼容性,这可能是富集效率高的原因。但无论是哪种方法,水样的富集浓缩和检测是水中病毒检测必不可少的两大关键步骤。

3 水中病毒的富集浓缩方法

吸附洗脱法是目前应用最广的针对大体积样品中病毒的富集浓缩方法,主要包括膜吸附洗脱法和固体颗粒吸附洗脱法,其原理均是利用负载电荷的滤膜或固体颗粒滤料吸附水中表面带相反电荷的病毒粒子,然后再用洗脱液将病毒粒子洗脱下来,达到富集的目的。根据滤膜或滤料所带电荷的不同又分为正电荷过滤器和负电荷过滤器。美国方法中使用的NanoCeram®过滤器和1-MDS过滤器均为正电荷过滤器;日本方法中使用的是负电荷过滤器。Jin等^[9]研发了EGM过滤器,表现出较好的富集性能,该过滤器也属于正电荷过滤器,其对地表水中脊髓灰质炎病毒进行富集的回收率可达99%,对腺病毒、诺如病毒等的平均回收率可达87%以上,优于1-MDS过滤器;Miao等^[10]以海水中的肠道病毒为试验对象,将EGM过滤器与超滤法(切线流过滤,TFF)进行了比较,结果显示EGM过滤器对肠道病毒的回收率可达到88%以上,而超滤法仅为52.5%。超滤法是近年来发展起来的另一种病毒富集方法,该方法适用于较为洁净的水体中病毒的富集^[11]。目前多采用中空纤维超滤器,过滤时一般选用切线流过滤(TFF),即水样沿与膜水平的方向流动,循环过滤若干次。超滤法的回收率不仅与病毒颗粒大小及滤膜孔径大小有关,水样中存在的大分子天然有机物同样会被富集,影响病毒的回收率^[12]。另外,也有研究将絮凝沉淀法、超速离心法用于水中病毒的富集,这些方法均仅限于较小体积水样的浓缩处理。

4 水中病毒的检测方法

4.1 细胞培养法

细胞培养法是传统的检测方法,被认为是目前检测病毒感染性的最可靠方法^[13]。因不同细胞有固定的病毒敏感谱,细胞传代次数对病毒敏感性会造成影响,因此选择特异性细胞系是采用培养法检测特定病毒的先决条件。目前常用的细胞系有Hep-2、Hela、Vero和BGM等,其中BGM细胞系多用于水中肠道病毒的分离检测。USEPA 1615中细

胞培养使用的细胞系即为BGM;美国《水和废水标准检测方法》中采用的细胞系是BGM、Hep-2和Hela;日本《饮用水试验方法 微生物部分》中提到的细胞系有Hela、Hep-2、Vero、RD-18S和BGM。

4.2 免疫学方法

免疫学检测方法主要是利用抗原-抗体反应的高度特异性,以病毒抗原-抗体阳性反应作为检测的依据,根据其抗体的选择对病毒进行一定程度的分型检测^[14]。目前较常用的免疫学方法有免疫荧光法(IFA)、酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫胶体金技术(GICT)等^[15]。IFA方法特异性强,但其检测容易受到荧光素半衰期与非特异性荧光的干扰;ELISA方法简便快速;GICT方法成本低、操作简单、用时短、便于肉眼观察。免疫学方法灵敏度较低,无法用于水中病毒的直接检测,但其检测快速,因此多用于样本初筛。

4.3 分子生物学方法

分子生物学方法包括PCR、RT-PCR、巢式-PCR、多重-PCR、多重-巢式-PCR以及qPCR等,可用于难以培养病毒的快速检测。由于污染水体中病毒多为RNA病毒,故RT-PCR是目前水中病毒检测应用最广泛的方法,有诺如病毒检测的“金标准”之称^[16];巢式-PCR可以显著提高PCR的检测灵敏度和特异性,比普通PCR至少灵敏1000倍^[17];多重-PCR和多重-巢式-PCR可以实现多种病毒或者同种病毒不同血清型的同时检测;qPCR和RT-qPCR是通过实时监控反应过程中荧光信号的积累对样品进行定量分析,实现了PCR检测从定性到定量的飞跃,而且片段扩增及产物分析等过程要求在全封闭状态下进行,可有效减少污染和对人体的危害。

此外,分子生物学方法还包括环介导恒温扩增技术(LAMP)、基于核酸序列的扩增技术(NASBA)、基因芯片技术等,这些方法都是基于核酸扩增、杂交技术,可以得到较好的灵敏度。杨丽等^[18]用LAMP技术对北京饮用水及再生水中星状病毒、轮状病毒及诺如病毒进行了检测,其灵敏度分别是PCR检测的10倍(星状病毒)和100倍(轮状病毒和诺如病毒)。Jean等^[19]利用多重NASBA技术同时检测水中的甲型肝炎病毒和轮状病毒,结果发现经优化的NASBA可检测400 PFU/mL的甲型肝炎病毒和40 PFU/mL的轮状病毒。

4.4 细胞培养结合PCR方法

水中病毒种类繁多,传统的细胞培养法并不能检测所有病毒,无法直接对不产生细胞病变作用的病毒进行检验^[20]。因此衍生出了细胞培养与PCR相结合的方法(ICC-PCR或ICC-RT-PCR)。该方法是利用PCR快速检测病毒在宿主细胞内产生的mRNA,完成对具有感染性病毒的检测,灵敏度更高。Ko等^[21]将细胞培养法与RT-qPCR结合,最低检测到了5个感染单位(IU)的感染性腺病毒。

4.5 免疫技术结合分子生物学检测技术

该技术主要包括免疫-PCR(IPCR)、PCR-ELISA等方法。IPCR作为一种抗原检测系统同时具有抗原-抗体反应的高特异性和PCR反应的高灵敏度的优点^[22]。PCR-ELISA是用免疫学方法检测PCR产物,比常规的电泳及杂交方法更简便、省时,且同时可处理大量样本、便于自动化操作。

4.6 高通量测序技术

高通量测序技术始于2005年,454 Life Sciences公司推出了基于焦磷酸测序法的超高通量基因组测序系统,目前微生物测序中应用较为广泛的平台是Illumina测序技术。葛英亮等^[23]以东太湖水源水为研究对象,应用梯度-串联-循环-切向流超滤技术对水体中病毒进行富集浓缩后采用Illumina MiSeq进行测序,获得1190914928 bp基因数据,可组装成5554条序列,在科的水平上注释到了40个科病毒的同源序列。

5 讨论

5.1 富集方法的选择

由于水环境中的病毒量很低,如何将水中特别是饮用水中的病毒进行有效富集浓缩就成为了在病毒检测中必须要解决的技术问题和关键控制点,在完成高效富集的基础上还应考虑基质及其可能带来的干扰问题。良好的病毒富集方法应满足以下特点:①操作简便、快速,易于推广使用;②富集倍数高,所需水样体积小;③回收率高且稳定;④受水体浊度、悬浮物、有机质等影响较小;⑤可完成对多种病毒的富集浓缩。

5.2 检测方法的选择

目前水中病毒的检测方法常见于细胞培养法和基于PCR技术的分子生物学方法。两种方法各有优缺点:细胞培养法细胞培养周期较长、培养过程中易被细菌或真菌污染;多种病毒可同时在一种细胞

系中繁殖,无法直接用细胞培养法对病毒进行血清型鉴定;且不能用于对不产生细胞病变作用的病毒的检测。基于PCR技术的分子生物学方法是以病毒核酸为检测对象,因此得到的阳性结果不能表征病毒的感染性。也正因为如此,有研究将两种方法进行了结合(ICC-RT-PCR)并取得了较满意的结果,但是这种方法技术要求高、操作难度大、检测成本高、检测周期长,不便于方法推广和大宗样品的检测。IPCR、PCR-ELISA等免疫学与PCR相结合的技术虽然具有高特异性、高灵敏度等特点,但由于免疫反应对抗体的纯度要求很高,制备高纯度的抗体操作复杂、耗时长、成本高、技术难度大,因此推广难度也很大。高通量测序技术通过单次测序即可获得较大的数据量,且测得数据对样本的覆盖率较高,可检测到丰度很低的病毒序列,但该技术因成本较高,目前仅限于科学研究。病毒的检测方法包括但并不仅限于以上方法,检测方法未来的发展方向应考虑多技术的融合,并应满足以下特点:①操作简单、检测周期短;②灵敏度高、特异性强;③样品检出率高,假阴性率低;④能区分病毒的感染性;⑤可同时检测多种病毒或多种血清型的病毒。

6 展望

近半个世纪发生了多起由病毒引发的介水传染病事件,在环境水体甚至饮用水中也都有病毒的检出,但是目前绝大多数国家对饮用水中病毒的控制及检测均没有提出明确的标准要求,鲜有的几个国家提供了病毒的检测方法,但又各不相同。为了有效控制由病毒引发的生物风险,对饮用水中的病毒进行检测和健康风险评估十分必要。鉴于介水传播的病毒种类繁多,因此开发一种检测种类多、富集倍数高、基体干扰少、检测成本低、操作简单、易于推广的检测方法就成为了开展上述工作的前提条件和努力方向。同时,鉴于大多数病毒的致病性,因此更为简单、封闭的检测系统,尽可能减少检测人员与样本的高频接触,以及自动化的检测过程,尽可能用仪器操作代替人工操作,在方法开发时也应该引起关注。

此外,为了全面掌握我国介水传播疾病的发生情况,建议参照美国水源性疾病和疫情监测系统,在我国传染病信息系统的基础上扩建专门的介水传播疾病的信息报告系统,收集各种水源性疾病疫情数据,了解和掌握我国介水疾病的感染现状和特点,分析可能的环境影响因素和控制条件。此外,建议建

立我国自然水体中病毒的基础性数据库,同时加强水体中病毒的介水传播途径和人群暴露风险的研究,为采取针对性的管控措施提供科学依据,为提升我国的饮用水安全水平提供技术支撑。

参考文献:

- [1] 张强. 微污染水源水处理过程中消毒副产物及病毒类微生物变化特性研究[D]. 上海:复旦大学,2012. Zhang Qiang. Study on Changes of Disinfection By-products and Virus Microorganisms in Water Treatment of Micro-polluted Source Water[D]. Shanghai: Fudan University, 2012 (in Chinese).
- [2] Ye X Y, Ming X, Zhang Y L, *et al.* Real-time PCR detection of enteric viruses in source water and treated drinking water in Wuhan, China[J]. *Curr Microbiol*, 2012, 65(3): 244-253.
- [3] 叶晓艳. 饮用水中病毒浓缩及检测方法的研究和应用[D]. 武汉:华中科技大学,2012. Ye Xiaoyan. Establishment and Application of the Methods for Concentration and Real-time PCR Detection of Enteric Viruses in Water[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2012 (in Chinese).
- [4] 苗静. 水中人类肠病毒污染的预测新技术研究[D]. 天津:军事科学院,2019. Miao Jing. New Techniques for Predicting Human Enteric Viruses Pollution in Water[D]. Tianjin: Academy of Military Sciences PLA China, 2019 (in Chinese).
- [5] Sarmila T, Jeevan B S, Dinesh B, *et al.* Presence of human enteric viruses, protozoa, and indicators of pathogens in the Bagmati River, Nepal[J]. *Pathogens*, 2018, 7(2): 38.
- [6] 张静. 德州市城乡一体化供水细菌和肠道病毒污染现状调查[D]. 北京:中国疾病预防控制中心,2017. Zhang Jing. Investigation on the Status of Bacteria and Enteroviruses in Drinking Water of Dezhou City[D]. Beijing: China CDC, 2017 (in Chinese).
- [7] Li T C, Yang T T, Shiota T, *et al.* Molecular detection of hepatitis E virus in rivers in the Philippines[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 2014, 90(4): 764-766.
- [8] Tao C W, Hsu B M, Kao P M, *et al.* Seasonal difference of human adenoviruses in a subtropical river basin based on 1-year monthly survey[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23: 2928-2936.

- [9] Jin M, Guo X, Wang X W, *et al.* Development of a novel filter cartridge system with electropositive granule media to concentrate viruses from large volumes of natural surface water[J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(12): 6947 – 6956.
- [10] Miao J, Jiang H J, Yang Z W, *et al.* Assessment of an electropositive granule media filter for concentrating viruses from large volumes of coastal water[J]. *Environ Sci: Water Res Technol*, 2019, 5(2): 325 – 333.
- [11] Hill V R, Polaczyk A L, Hahn D, *et al.* Development of a rapid method for simultaneous recovery of diverse microbes in drinking water by ultrafiltration with sodium polyphosphate and surfactants [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(11): 6878 – 6884.
- [12] Heru S, Mathias U. High-performance thin-layer hydrogel composite membranes for ultrafiltration of natural organic matter[J]. *Water Res*, 2008, 42(10/11): 2827 – 2835.
- [13] 张文福. 病毒灭活检验技术[J]. *中国消毒学杂志*, 2004, 21(3): 260 – 261.
Zhang Wenfu. Virus inactivation test [J]. *Chinese Journal of Disinfection*, 2004, 21(3): 260 – 261 (in Chinese).
- [14] 张崇淼. 水环境中肠道病原体的 PCR 检测方法与健康风险评估研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2008.
Zhang Chongmiao. Study on the PCR Detection Method and Health Risk Assessment of Enteric Pathogens in Water Environment [D]. Xi'an: Xi'an University of Architecture and Technology, 2008 (in Chinese).
- [15] 陈军红. 空气和水环境中病毒的富集、检测与净化[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
Chen Junhong. Enrichment, Detection and Purification of Viruses in Air and Water Environments [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005 (in Chinese).
- [16] 李志凯, 苏国成, 苏文金, 等. 诺如病毒检测方法研究进展[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(7): 1417 – 1424.
Li Zhikai, Su Guocheng, Su Wenjin, *et al.* Progress of detection methods for norovirus [J]. *Microbiology China*, 2014, 41(7): 1417 – 1424 (in Chinese).
- [17] Kittigul L, Ekchaloemkiet S, Utrarachkij F, *et al.* An efficient virus concentration method and RT – nested PCR for detection of rotaviruses in environmental water samples[J]. *J Virol Methods*, 2005, 124(1/2): 117 – 122.
- [18] 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 Li. Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Detection of Three Enteric Viruses and Its Application in Water Samples [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [19] Jean J, Blais B, André D, *et al.* Simultaneous detection and identification of hepatitis A virus and rotavirus by multiplex nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) and microtiter plate hybridization system [J]. *J Virol Methods*, 2002, 105(1): 123 – 132.
- [20] Ko G, Cromeans T L, Sobsey M D. UV inactivation of adenovirus type 41 measured by cell culture mRNA RT – PCR [J]. *Water Res*, 2005, 39(15): 3643 – 3649.
- [21] Ko G, Jothikumar N, Hill V R, *et al.* Rapid detection of infectious adenoviruses by mRNA real-time RT – PCR [J]. *J Virol Methods*, 2005, 127(2): 148 – 153.
- [22] Hwang Y C, Leong O M, Chen W, *et al.* Comparison of a reporter assay and immunomagnetic separation real-time reverse transcription – PCR for the detection of enteroviruses in seeded environmental water samples [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(7): 2338 – 2340.
- [23] 葛英亮, 于水利, 时文歆. 应用 Illumina Miseq 测序分析饮用水源水中病毒多样性[J]. *食品科学*, 2018, 39(2): 287 – 292.
Ge Yingliang, Yu Shuli, Shi Wenxin. Analysis of virus diversity in drinking source water by using Illumina Miseq sequencing technology [J]. *Food Science*, 2018, 39(2): 287 – 292 (in Chinese).



作者简介: 张晓 (1979 –), 女, 河北邢台人, 硕士, 副研究员, 从事饮水与健康相关研究工作。

E – mail: zhangxiao@nieh.chinaedc.cn

收稿日期: 2020 – 03 – 01