

给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究

郑琦, 陈超*, 张晓健, 陆品品, 刘源源, 陈雨乔

(清华大学环境学院, 北京 100084)

摘要: 近年来, 在饮用水管网中检测到耐受消毒剂的微生物, 对于饮用水安全造成威胁. 课题组由南方某城市自来水管网中分离出1株耐氯的产黏液分枝杆菌(*Mycobacteria mucogenicum*), 并对其灭活特性和耐氯机制进行了研究. 使用自由氯、一氯胺和二氧化氯对其进行消毒实验, 测定CT值. 99.9%灭活产黏液分枝杆菌时, 自由氯的CT值为(76.25 ± 47.55) mg·min·L⁻¹, 一氯胺为(1396 ± 382) mg·min·L⁻¹, 二氧化氯为(13.5 ± 4.9) mg·min·L⁻¹. 采用透射电镜对产黏液分枝杆菌的消毒过程进行观察, 发现消毒后细菌结构疏松, 细胞器层次变得不清晰, 核心肿胀溶解. 产黏液分枝杆菌具有较好的疏水性, 测定其表面疏水率为37.2%, 远高于其他细菌, 使得亲水性消毒剂不易进入细菌内部, 是其耐受含氯消毒剂的原因之一.

关键词: 产黏液分枝杆菌; 消毒特性; 细胞表面疏水率; 给水管网; 耐氯机制

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)02-0576-07

Inactivation of *Mycobacteria mucogenicum* in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis

ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, LU Pin-pin, LIU Yuan-yuan, CHEN Yu-qiao

(School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: In recent years, chlorine-resistant bacteria were detected in drinking water distribution systems which threatened the drinking water safety. Our group detected one strain named *Mycobacteria mucogenicum* from the drinking water distribution system of a city in south China. This paper studied chlorine resistance and mechanism of *Mycobacteria mucogenicum*. Inactivation experiments of one strain *Mycobacteria mucogenicum* were conducted with free chlorine, monochloramine and chlorine dioxide. The CT values of 99.9% inactivation by free chlorine, monochloramine and chlorine dioxide were detected as (76.25 ± 47.55) mg·min·L⁻¹, (1396 ± 382) mg·min·L⁻¹, (13.5 ± 4.9) mg·min·L⁻¹. Using transmission electronmicroscopy (TEM) observed the inactivation process of *Mycobacteria mucogenicum*. The bacteria surface hydrophobic of *Mycobacteria mucogenicum* was 37.2%. *Mycobacteria mucogenicum* has a higher hydrophobicity than other bacteria which prevented the diffusion of chlorine into cells. *Mycobacteria mucogenicum* is more resistant to chlorine than other bacteria.

Key words: *Mycobacteria mucogenicum*; inactivation characteristics; bacteria surface hydrophobic; drinking water distribution system; chlorine resistance mechanism

消毒是保障饮用水安全的最后一道防线. 含有充足消毒剂的出厂水, 在经过供水管网时仍然会出现微生物指标增加的现象. 1947年, Bogolyubov就在氯浓度足够大的水中发现细菌的存在^[1]. 之后又有关于大肠埃希菌、肠球菌、军团菌对次氯酸钠有抗性, 克雷伯杆菌、铜绿假单胞菌、伤寒杆菌对氯胺有抗性的报道^[2]. 由于耐受消毒剂的微生物存在而导致的水质风险问题是当前国内外饮用水消毒和生物稳定性研究的热点之一.

在消毒剂耐受菌中, 分枝杆菌的出现几率最高, 报道也较多. 近年来, 国际同行在天然水体、饮用水、饮用水生物膜、污水、医院用水、热水系统中都检测到分枝杆菌^[3-10]. 分枝杆菌分为结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌和非结核分枝杆菌. 饮用水中研究较多的是非结核分枝杆菌. 非结核分枝杆菌根据其生长速率, 又分为慢速生长型、快速生长型和不可培养型. 它可导致慢性肺部疾病、淋巴结炎、皮肤和软组织感染等^[11, 12]. 研究报道称, 分枝杆菌对常规消毒剂具有较好耐受性^[13, 14], 并且能适应广泛的pH和温度^[15], 给饮用水带来较大的安全隐患. 分枝杆菌耐氯性可能是因为特殊的细胞壁膜结构^[16]或者分枝杆菌基因多态性^[17].

本研究使用的产黏液分枝杆菌(*Mycobacterium mucogenicum*)由课题组从南方某城市自来水管网中检出. 该菌属于快速生长非结核分枝杆菌, 为致病菌, 可引起创伤后皮肤感染和败血症. 目前对产黏液分枝杆菌的研究主要集中在医学领域, 鲜见在饮用

水方面的研究. 本研究使用的产黏液分枝杆菌(*Mycobacterium mucogenicum*)由课题组从南方某城市自来水管网中检出. 该菌属于快速生长非结核分枝杆菌, 为致病菌, 可引起创伤后皮肤感染和败血症. 目前对产黏液分枝杆菌的研究主要集中在医学领域, 鲜见在饮用

收稿日期: 2012-04-11; 修订日期: 2012-06-24

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2009AA06Z308); 国际科技交流与合作专项(2010DFA91830); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07420-005)

作者简介: 郑琦(1989~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为饮用水消毒. E-mail: zhengq06@mails.tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: chen_water@tsinghua.edu.cn

水中的报道。

本研究使用含氯消毒剂对产黏液分枝杆菌进行灭活分析, 得出消毒剂灭活产黏液分枝杆菌的特性参数, 并且通过透射电镜和细菌表面疏水性测定, 尝试分析分枝杆菌的耐氯机制。

1 材料与方法

1.1 产黏液分枝杆菌和参比细菌

在南方某城市自来水管网中检出 1 株分枝杆菌, 能在 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的一氯胺溶液中长期 (10 h 左右) 存活。委托中国工业微生物菌种保藏管理中心 (CICC) 开展生理生化和 16S rRNA 序列系统发育分析, 鉴定为产黏液分枝杆菌 (*Mycobacterium mucogenicum*)。

为了便于比较, 选择了 1 株鞘氨醇单胞杆菌 (*Sphingomonas*) 和 1 株藤泽式甲基杆菌 (*Methylobacterium fujisawaense*)。这 2 株菌同样是从该城市自来水管网中分离出来, 并委托 CICC 进行了鉴定。

1.2 实验用细菌悬液的制备

实验室培养采用 R2A 平板划线 22°C 恒温培养 7 d, 挑取典型菌落, 接种到盛有 R2A 培养基的小试管中, 水浴摇床 22°C 培养 7 d。将培养物于离心机中以 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度离心 10 min, 弃上清液。将沉积物用磷酸盐缓冲溶液 (PBS, $\text{pH} = 7$) 洗涤 2 次后, 用 PBS ($\text{pH} = 7$) 稀释到菌液浓度约为 $10^5 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 制成污染水样, 进行消毒实验。

1.3 消毒实验流程

向含有 250 mL 人工污染水样的棕色玻璃瓶中加入消毒剂, 接触一定时间后, 从棕色玻璃瓶中快速取出 10 mL 样品测定消毒剂含量; 另取出 10 mL 样品, 加入 100 μL 无菌终止剂 ($0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液) 终止消毒反应, 测定残余菌株数量^[18]。

1.4 消毒剂的配置和测定

自由氯采用次氯酸钠溶液 (有效氯浓度为 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 北京益利精细化学品有限公司) 稀释配制。一氯胺采用次氯酸钠溶液和硫酸铵溶液按照 $m(\text{Cl}_2) : m(\text{N}) = 4 : 1$, 在 $\text{pH} = 9$ 的条件下, 冰浴 (1°C) 搅拌反应 15 min 配制。二氧化氯通过稀释二氧化氯溶液 (有效二氧化氯浓度为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 北京维尔康净化工程技术有限公司) 配制。

自由氯和一氯胺采用余氯仪 (Hach Pocket ColorimeterTM II, Cat No. 58700-51, USA) 测定, 二氧化氯采用二氧化氯测定仪 (Hach Pocket ColorimeterTM II, Cat No. 58700-00, USA) 测定。

1.5 细菌计数方法

初始的细菌浓度和反应过程中残余细菌浓度均采用异养菌平板计数法 (HPC) 测定^[19], 采用 R2A 平板 22°C 培养 7 d 计数, 每个水样设置 2 个稀释梯度, 每个梯度 3 个平行样, 取菌落数 30 ~ 300 的平板计数。

1.6 透射电镜

透射电子显微镜具有高分辨率, 能够揭示微生物内部的超微结构特征, 为研究消毒剂对细菌结构等方面的破坏作用及消毒机理提供有价值的形态学依据。取已经培养好的纯菌菌液进行离心, 弃上清, 沿管壁缓慢加入 20 倍体积的 2.5% 的戊二醛, 4°C 静置固定 4 h 以上, 加入磷酸盐缓冲液 ($0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{pH} = 7.4$) 漂洗, 以洗去多余的固定液。离心后, 再使用 1% 锇酸 0.5 mL 固定 2 h, 然后使用磷酸盐缓冲液漂洗 3 次, 洗去多余的锇酸。最后依次用酒精、丙酮、环氧丙烷脱水, 以除去细胞中的游离水^[20]。将样品送至中国科学院微生物所电镜室制备超薄切片, 在透射电镜 (JEM-1200EX) 下观察、拍照。

1.7 细胞表面疏水率测定

本实验采用微生物粘着碳烃化合物法^[21] (microbial adhesion to hydrocarbons, MATH) 测定细胞表面疏水性。向 10 mL 磨口圆底玻璃比色管 ($d = 10 \text{ mm}$, 实验前用铬酸洗液浸泡, 用自来水, 纯净水洗净) 内加入 4 mL 菌悬液 (约 $10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$), 再加入 1.5 mL 正己烷作为有机相, 用玻璃塞封口, 室温下剧烈振荡 60 s, 静置 15 min 分层。用无菌注射针头快速吸取水相溶液 3 mL, 以磷酸盐缓冲液为空白对照, 在 600 nm 波长下测定吸光度值。每个样品重复测定 3 次, 同时以不加有机相作为对照组。

细胞表面疏水率 $\text{CSH} =$

$$\frac{\text{对照组 } A_{600 \text{ nm}} - \text{实验组 } A_{600 \text{ nm}}}{\text{对照组 } A_{600 \text{ nm}}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 菌液浓度对实验的影响

菌液浓度对消毒实验的开展存在较大的影响。在前期研究中发现菌液浓度过高会导致消毒剂衰减过快, 不能正确反映消毒剂灭活细菌的特性^[22]。如图 1 所示, 初始菌液浓度 $N_0 = 1.2 \times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 加入 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 自由氯, 30 min 时衰减为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 60 min 时, 自由氯衰减为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。随着消毒剂浓度的降低, 细菌的灭活曲线逐渐减缓, 达到平台期。平台期的形成并不是因为消毒剂灭

活细菌的特性,而是因为消毒剂浓度衰减为一个较小值. 将分枝杆菌初始菌液浓度 $N_0 = 1.2 \times 10^7$ CFU·mL⁻¹和 $N_0 = 3 \times 10^5$ CFU·mL⁻¹的 1 mg·L⁻¹自由氯 0~60 min 的消毒特性曲线进行比较,如图 2 所示. 初始菌液浓度为 $N_0 = 1.2 \times 10^7$ CFU·mL⁻¹,消毒特性曲线初期有下降,之后下降缓慢,达到平台期; 初始菌液浓度为 $N_0 = 3 \times 10^5$ CFU·mL⁻¹,消毒特性曲线一直有下降的趋势,没有平台期.

因此本实验采用的细菌浓度约为 10^5 CFU·mL⁻¹,并在实验过程中不断检测消毒剂的含量,适时补加到设定值,游离氯的上下波动范围不超过 0.1 mg·L⁻¹,氯胺和二氧化氯的上下波动范围控制在 20% 以内.

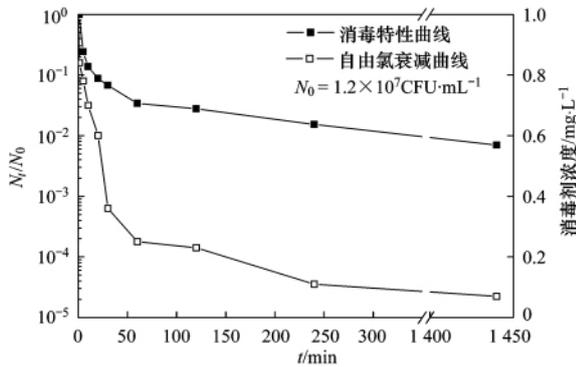


图 1 自由氯灭活分枝杆菌特性曲线
Fig. 1 Inactivation curve and free chlorine decay curve of *Mycobacterium mucogenicum*

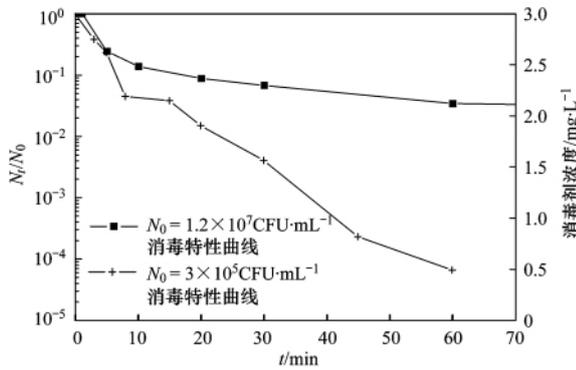


图 2 自由氯灭活不同初始菌液浓度消毒特性曲线比较
Fig. 2 Inactivation curve of *Mycobacterium mucogenicum* with different initial bacteria concentrations

2.2 消毒剂灭活分枝杆菌特性

分别用 0.3、0.5、0.7、1.0 mg·L⁻¹自由氯, 1.0、2.0、3.0 mg·L⁻¹一氯胺, 0.2、0.35 mg·L⁻¹二氧化氯灭活分枝杆菌. 根据实验结果,分别作消毒特性曲线和消毒剂衰减曲线,并将不同浓度的自由氯、

一氯胺和二氧化氯消毒过程中细菌存活率与 CT 进行直线拟合,如图 3~5 所示.

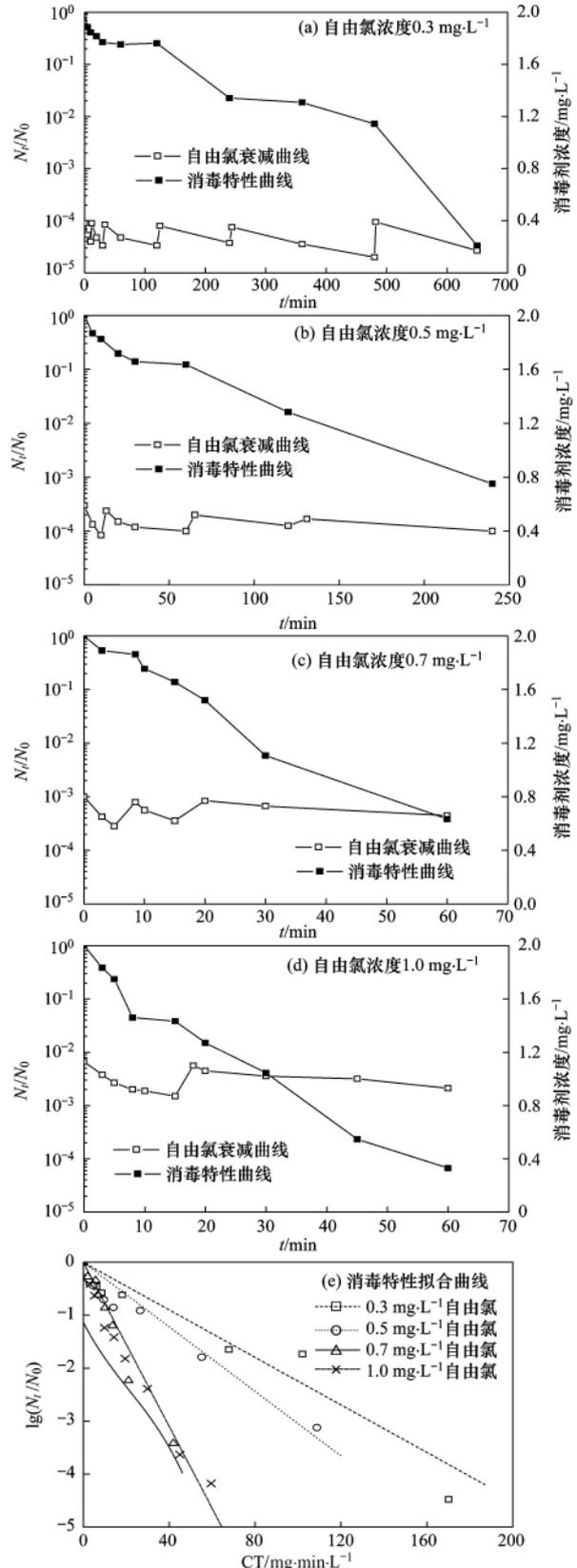


图 3 不同浓度自由氯灭活分枝杆菌消毒特性曲线
Fig. 3 Curves of different concentrations of free chlorine inactivate *Mycobacterium mucogenicum*

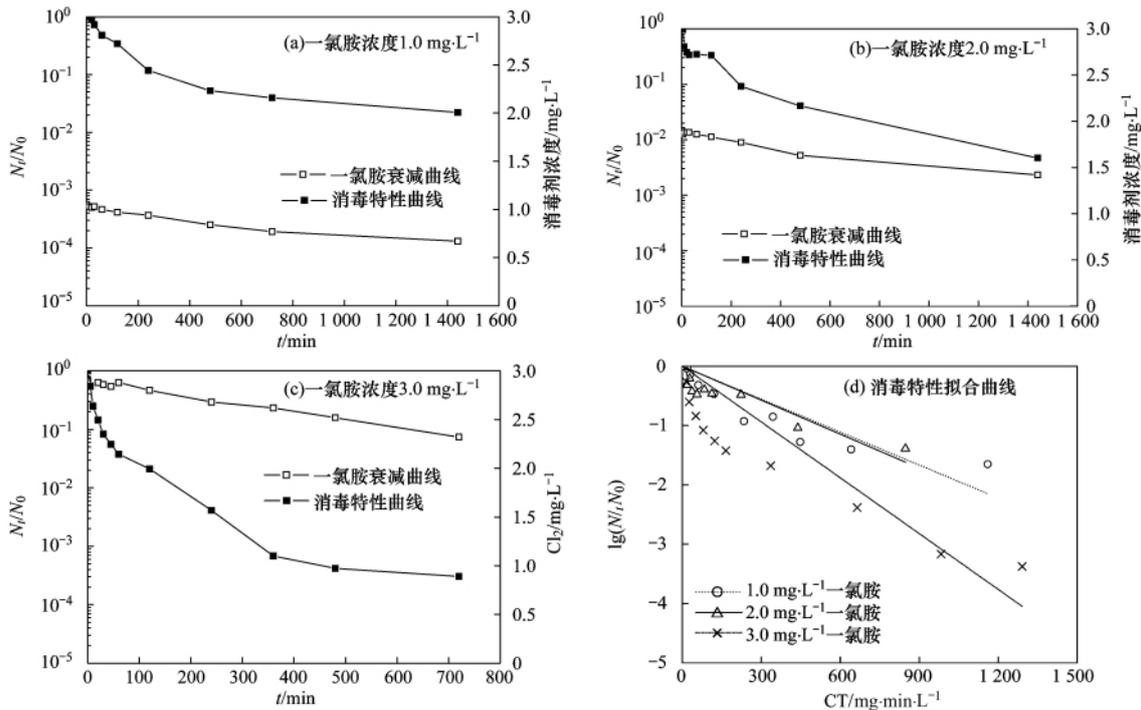


图 4 不同浓度一氯胺灭活分枝杆菌消毒特性曲线

Fig. 4 Curves of different concentrations of monochloramine inactivate *Mycobacterium mucogenicum*

在消毒的过程中通过补加消毒剂可以将剩余消毒剂稳定在设定的范围内,此时分枝杆菌的消毒特性曲线没有出现明显的平台期.如图 3 所示,由于自由氯衰减较快,补加频率相对较快,可以使其稳定在设定的范围内.如图 4 所示,一氯胺衰减较慢,在初始浓度为 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,只在 20 min 时补加一氯胺.如图 5 所示,二氧化氯含量稳定,实验中没有补加.

利用 Chick-Watson 公式:

$$\lg(N_t/N_0) = -kCT$$

CT 值计算采用积分的方法:

$$CT = \int_0^t c(\lambda) d\lambda$$

做出细菌存活率随 CT 值的变化曲线,对其进行直线拟合,如表 1 所示.可以看到其 R^2 均在 0.84 以上,具有较好线性关系.

表 1 不同消毒剂灭活分枝杆菌消毒特性曲线拟合结果

Table 1 Curves of different disinfections inactivate *Mycobacterium mucogenicum*

消毒剂种类	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	消毒特性拟合曲线	R^2
自由氯	0.3	$\lg(N_t/N_0) = -0.02245CT$	0.94403
	0.5	$\lg(N_t/N_0) = -0.03047CT$	0.95779
	0.7	$\lg(N_t/N_0) = -0.08614CT$	0.98579
	1.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.07744CT$	0.98203
一氯胺	1.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.00185CT$	0.88147
	2.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.00191CT$	0.84877
	3.0	$\lg(N_t/N_0) = -0.00314CT$	0.87766
二氧化氯	0.2	$\lg(N_t/N_0) = -0.17838CT$	0.90306
	0.35	$\lg(N_t/N_0) = -0.29558CT$	0.94254

根据以上结果得出不同消毒剂,灭活率为 99.9% 时的 CT 值,以 CT 99.9% 表示,如表 2; 并将其与常用指示菌——大肠埃希氏杆菌的 CT 99.9%^[24] 进行比较.自由氯灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为大肠埃希氏杆菌的 847 倍,一氯胺 CT

99.9% 分枝杆菌为大肠杆菌的 19 倍,二氧化氯 CT 99.9% 分枝杆菌为大肠杆菌的 675 倍,说明分枝杆菌的耐氯性远远强于大肠杆菌,需要采取有效的消毒方式对其进行处理.

可以看到,二氧化氯对分枝杆菌的消毒效果好

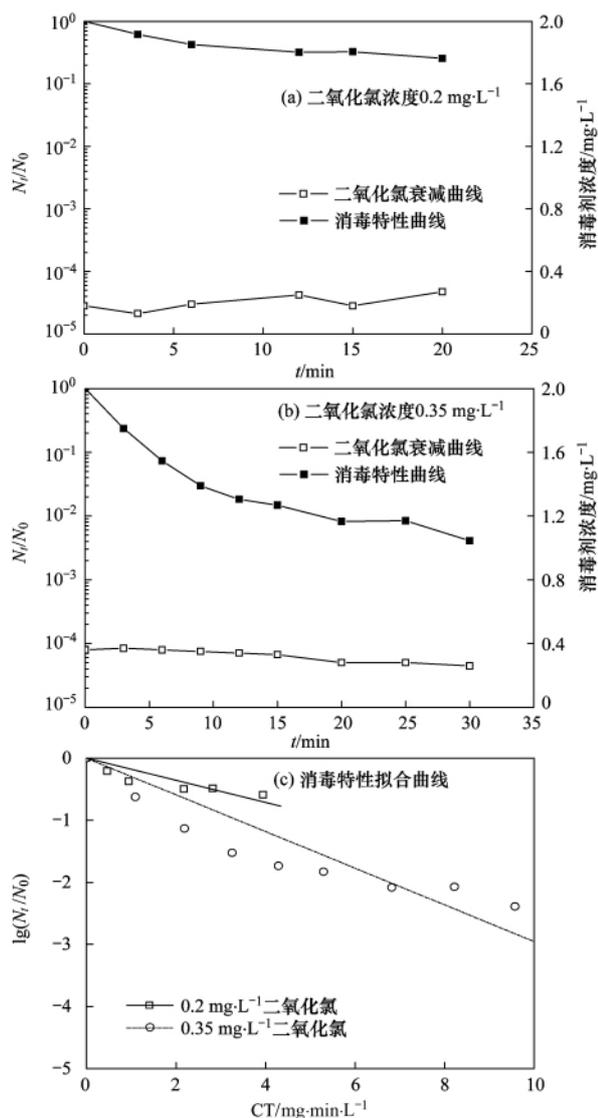


图 5 不同浓度二氧化氯灭活分枝杆菌消毒特性曲线
Fig. 5 Curves of different concentrations of chlorine dioxide inactivate *Mycobacterium mucogenicum*

表 2 不同消毒剂灭活分枝杆菌与大肠埃希氏杆菌的 CT 99.9% 比较 /mg·min·L⁻¹

Table 2 CT 99.9% of different disinfectants on *Mycobacterium mucogenicum* and *Escherichia coli* /mg·min·L⁻¹

菌名	消毒剂		
	自由氯	一氯胺	二氧化氯
分枝杆菌	76.25 ± 47.55	1 396 ± 382	13.5 ± 4.9
大肠杆菌	0.09 ± 0.003	73 ± 28	0.02 ± 0.003

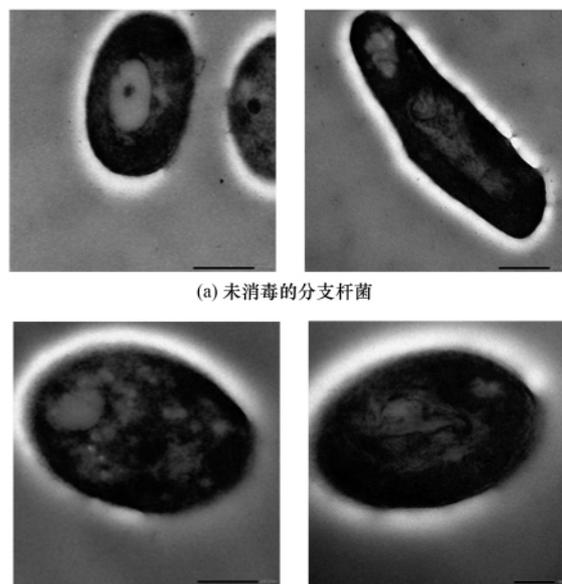
于自由氯,自由氯好于一氯胺. 3 种含氯消毒剂具有不同的特性. 二氧化氯对微生物细胞壁有较好的吸附和渗透性能,可有效氧化细胞内含巯基(SH)的酶,快速抑制细胞内蛋白质的合成,使蛋白质中的氨基酸氧化分解,从而灭活微生物^[24]. 自由氯对细菌的灭活机制主要表现为次氯酸的强氧化性. HOCl 为

很小的中性分子,它能扩散到带负电的细菌表面,并通过细菌的细胞壁渗透到细菌内部,氧化破坏细菌的酶系统而使细菌死亡^[25]. 一氯胺消毒一般认为是通过缓慢水解释放的 HClO 达到灭菌效果,其消毒的持久力比较强,但是消毒能力比较弱,杀菌作用不及自由氯.

因此,对于存在分枝杆菌潜在威胁的饮用水,推荐采用二氧化氯、自由氯消毒方式,或者在使用一氯胺消毒时,定期停止加氨,用自由氯消毒来提高对分枝杆菌的灭活效果.

2.3 分枝杆菌形态结构

将未消毒和用 2 mg·L⁻¹自由氯消毒 30 min 后的分枝杆菌进行电镜扫描,见图 6.



(a) 未消毒的分枝杆菌

(b) 消毒后的分枝杆菌

图 6 分枝杆菌透射电镜照片

Fig. 6 TEM image of *Mycobacterium mucogenicum*

透射电镜观察结果显示,正常的分枝杆菌菌体为椭球状、杆状,表面光滑,细胞壁及细胞膜结构完整,外壳较厚,壳内层次结构清晰,核区明显,电子密度均匀. 经过自由氯消毒 30 min 后,细菌结构有较明显的变化. 分枝杆菌结构疏松,体积增大,层次变得不清晰,核心肿胀溶解.

由此可以推测,自由氯消毒过程中,消毒剂有效成分首先作用于细胞表面,使细胞的通透性屏障受损,导致菌体内外渗透压遭到破坏,进而消毒剂有效成分进入菌体后,氧化菌体内部的结构,可能使一些酶类失去活性,以致细菌死亡.

2.4 分枝杆菌细胞表面疏水性

有研究表明分枝杆菌对于消毒剂的耐性是由于其特殊的细胞壁膜结构,如图 7 所示. 其细胞壁上富

含疏水分枝菌酸、长链分枝羟基脂肪酸、特殊脂类和糖脂,使得整个分枝杆菌的细胞壁具有极强的疏水性,亲水性物质必须通过通道蛋白的作用才能进出细胞,使得多数消毒剂难以进入其细胞内部发挥作用^[26]。

实验通过测定分枝杆菌的细胞表面疏水率,探讨其耐氯性的原因,为了便于比较同时测定了 1 株鞘氨醇单胞杆菌和 1 株藤泽式甲基杆菌的细胞表面疏水率,其耐氯性均远低于分枝杆菌^[27](表 3)。

鞘氨醇单胞杆菌、藤泽式甲基杆菌和分枝杆菌的细胞表面疏水率分别为 $-0.437\% \pm 1.061\%$, $1.04\% \pm 0.33\%$ 和 $37.22\% \pm 2.50\%$ (表 3)。其中前

表 3 细菌细胞表面疏水率

Table 3 Hydrophobic of bacteria surface

菌名	$A_{600\text{ nm}}$				细菌细胞表面疏水率 CSH
	对照组	1	2	3	
鞘氨醇单胞杆菌	0.381	0.378	0.385	0.385	$-0.437\% \pm 1.061\%$
藤泽式甲基杆菌	0.706	0.696	0.700	0.700	$1.039\% \pm 0.327\%$
产黏液分枝杆菌	1.021	0.631	0.670	0.622	$37.218\% \pm 2.499\%$

2 株细菌的疏水率基本为 0,即完全亲水,鞘氨醇单胞杆菌的疏水率 < 0 ,主要是由于实验误差造成。分枝杆菌的细胞表面疏水率高于鞘氨醇单胞杆菌和藤泽式甲基杆菌,说明分枝杆菌具有较好的疏水性,亲水性消毒剂不易进入细菌内部。

分枝杆菌细胞壁膜结构也得到了脂肪酸成分分析的证实。Chen 等^[28]测定了分枝杆菌细胞壁和细胞膜中的脂肪酸的组成,发现分枝杆菌的细胞壁中只含有饱和的脂肪酸,细胞膜也基本都由饱和脂肪酸构成。饱和脂肪酸可以作为阻碍消毒剂渗透到细胞内部并与细胞内物质发生反应的物理屏障。同时大量长链饱和脂肪酸还使分枝杆菌具有更高的疏水性,这也阻碍了消毒剂扩散到细菌体表面。饱和脂肪酸也具有更强的稳定性,相比之下不饱和脂肪酸的不饱和键是消毒剂容易攻击的反应位点。另外,更高比例的饱和脂肪酸还降低了细胞膜的流动性,也会抑制细胞外物质进入细菌内。

3 结论

(1) 分枝杆菌对于含氯消毒剂具有很高的耐受性。根据本实验结果,用自由氯 99.9% 灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为 $76.25 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$,是灭活大肠杆菌的 847 倍,一氯胺灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为 $1396 \text{ mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$,是灭活大肠杆菌的 19 倍,二氧化氯灭活分枝杆菌的 CT 99.9% 为 13.5

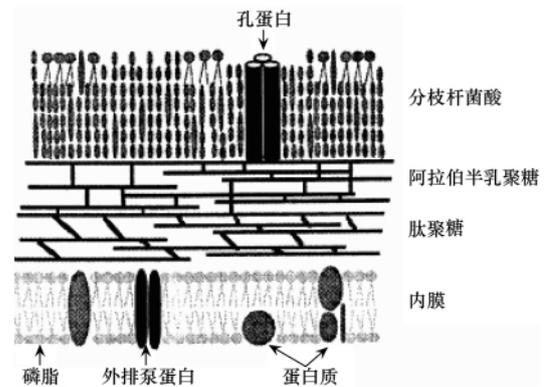


图 7 分枝杆菌细胞壁结构示意图^[27]

Fig. 7 Cell wall structure of *Mycobacterium mucogenicum*

$\text{mg} \cdot \text{min} \cdot \text{L}^{-1}$,是灭活大肠杆菌的 675 倍。

(2) 由消毒灭活特性可知,二氧化氯灭活分枝杆菌的消毒效果好于自由氯,自由氯好于一氯胺。因此,对于存在分枝杆菌潜在威胁的饮用水,推荐采用二氧化氯、自由氯消毒方式,或者在使用一氯胺消毒时,定期停止加氨,用自由氯消毒来提高对分枝杆菌的灭活效果。

(3) 分枝杆菌细胞壁和细胞膜含有饱和脂肪酸,其细胞表面疏水率较大,远高于鞘氨醇单胞杆菌、藤泽式甲基杆菌等其他细菌,使得极性的消毒剂不易扩散到达细菌表面,其反应活性也比含不饱和脂肪酸的细菌弱,因而比其他细菌对消毒剂更有耐性。

参考文献:

- [1] Pyle B H, Watters S K, McFeters G A. Physiological aspects of disinfection resistance in *Pseudomonas cepacia* [J]. Journal of Applied Microbiology, 1994, 76(2): 142-148.
- [2] 杨柳, 许欣. 细菌对消毒剂抗性的研究进展 [J]. 预防医学情报杂志, 2005, 21(6): 676-679.
- [3] Torkko P, Suomalainen S, Iivanainen E, et al. Characterization of *Mycobacterium bohemicum* isolated from human, veterinary, and environmental sources [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2001, 39(1): 207-211.
- [4] Ristola M A, Von Reyn C F, Arbeit R D, et al. High rates of disseminated infection due to non-tuberculous mycobacteria among AIDS patients in Finland [J]. The Journal of Infection,

- 1999 ,**39**(1) : 61-67.
- [5] Falkinham III J O , Norton C D , LeChevallier M W. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium* , *Mycobacterium intracellulare* , and other mycobacteria in drinking water distribution systems [J]. Applied and Environmental Microbiology , 2001 , **67**(3) : 1225-1231.
- [6] Jin B W , Saito H , Yoshii Z. Environmental mycobacteria in Korea. I. distribution of the organisms [J]. Microbiology and Immunology , 1984 , **28**(6) : 667-677.
- [7] Hillebrand-Haverkort M E , Kolk A H J , Kox L F F , et al. Generalized *Mycobacterium genavense* infection in HIV-infected patients: detection of the mycobacterium in hospital tap water [J]. Scandinavian Journal of Infectious Diseases , 1999 , **31**(1) : 63-68.
- [8] Lockwood W W , Friedman C , Bus N , et al. An outbreak of *Mycobacterium terrae* in clinical specimens associated with a hospital potable water supply [J]. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine , 1989 , **140**(6) : 1614-1617.
- [9] Wright E P , Collins C H , Yates M D. *Mycobacterium xenopi* and *Mycobacterium kansasii* in a hospital water supply [J]. Journal of Hospital Infection , 1985 , **6**(2) : 175-178.
- [10] Lee E S , Lee M Y , Han S H , et al. Occurrence and molecular differentiation of environmental mycobacteria in surface waters [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology , 2008 , **18**(7) : 1207-1215.
- [11] Collins C H , Grange J M , Yates M D. Mycobacteria in water [J]. Journal of Applied Microbiology , 1984 , **57**(2) : 93-211.
- [12] Dailloux M , Laurain C , Weber M , et al. Water and nontuberculous mycobacteria [J]. Water Research , 1999 , **33**(10) : 2219-2228.
- [13] Lee E S , Yoon T H , Lee M Y , et al. Inactivation of environmental mycobacteria by free chlorine and UV [J]. Water Research , 2012 , **44**(5) : 1329-1334.
- [14] Vicuña-Reyes J P , Luh J , Mariñas B J. Inactivation of *Mycobacterium avium* with chlorine dioxide [J]. Water Research , 2008 , **42**(6-7) : 1531-1538.
- [15] Falkinham J O. Impact of human activities on the ecology of non-tuberculous mycobacteria [J]. Future Microbiology , 2010 , **5**(6) : 951-960.
- [16] Maillard J Y. Bacterial target sites for biocide action [J]. Journal of Applied Microbiology , 2002 , **92**(Supplement1) : 16S-27S.
- [17] 张朝武. 分枝杆菌抗性与消毒研究进展 [J]. 中国消毒学杂志 , 2006 , **23**(3) : 260-263.
- [18] 刘静. 饮用水组合氯化消毒工艺的研究 [D]. 北京: 清华大学 , 2009.
- [19] 鲁巍 , 王云 , 张晓健. 饮用水中几种细菌计数方法的比较 [J]. 环境科学 , 2004 , **25**(4) : 167-169.
- [20] 魏玉利 , 邹宁. 光合细菌的透射电镜观察 [J]. 生命科学仪器 , 2007 , **5**(5) : 16-18.
- [21] 孙晓莹 , 施汉昌 , 全向春 , 等. 细菌细胞表面疏水性及在活性污泥中粘附率影响因素研究 [J]. 环境科学 , 2008 , **29**(10) : 2809-2814.
- [22] 刘静 , 陈超 , 张晓健 , 等. 微生物杀灭效果试验中的游离氯转化研究 [J]. 环境科学 , 2008 , **29**(11) : 3054-3058.
- [23] Taylor R H , Falkinham J O III , Norton C D , et al. Chlorine , chloramine , chlorine dioxide , and ozone susceptibility of *Mycobacterium avium* [J]. Applied and Environmental Microbiology , 2000 , **66**(4) : 1702-1705.
- [24] 陈超. 控制消毒副产物的顺序氯化消毒及水处理工艺优化研究 [D]. 北京: 清华大学 , 2005.
- [25] 蔡宏道. 现代环境卫生学 [M]. 北京: 人民卫生出版社 , 1995.
- [26] Pan F , Jackson M , Ma Y F , et al. Cell wall core galactofuran synthesis is essential for growth of mycobacteria [J]. Journal of Bacteriology , 2001 , **183**(13) : 3991-3998.
- [27] 陈雨乔 , 段晓笛 , 陆品品 , 等. 给水管网中耐氯性细菌的灭活特性研究 [J]. 环境科学 , 2012 , **33**(1) : 104-109.
- [28] Chen Y Q , Chen C , Zhang X J , et al. Inactivation of resistant *Mycobacteria mucogenicum* in water: chlorine resistance and mechanism analysis [J]. Biomedical and Environmental Sciences , 2011 , **25**(2) : 230-237.