

再生水中隐孢子虫和贾第鞭毛虫的检测方法研究

张 彤, 胡洪营, 宗祖胜

(清华大学 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘 要: 隐孢子虫和贾第鞭毛虫 (简称“两虫”) 是两种严重危害水质安全的病原性原生动物, 但国际上常用的两虫检测方法——1623 方法存在工作量大、成本高、回收率低等缺点。通过考察 1623 方法中浓缩、分离两个主要环节的替代方案, 发现膜过滤—洗脱是比较理想的两虫浓缩方式, 在免疫磁性分离 (MS) 环节中酸解离比热解离的效果好。根据以上研究成果, 建立了回收率较高 (对两虫的回收率分别超过了 30% 和 40%) 而成本较低 (为原方法的 55% 左右) 的再生水两虫密度检测方法。进一步的研究表明, 浓缩是限制低浊水 (浊度约 1 NTU) 回收率的主要步骤, 而 MS 是限制高浊水 (浊度约 4 NTU) 回收率的主要步骤。

关键词: 污水再生利用; 隐孢子虫; 贾第鞭毛虫; 检测

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2006)05-0019-06

Study on Method for Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Reclaimed Water

ZHANG Tong, HU Hong-ying, ZONG Zu-sheng

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: *Cryptosporidium* and *Giardia* are two common species of pathogenic protozoan, seriously endangering the water quality. The most frequently used method for detecting *Cryptosporidium* and *Giardia* is named as “method 1623”, which has several shortages, including high cost, low recovery and others. Various means of concentration and separation, two main steps in method 1623, were evaluated. The results show that membrane filtration - elution is a more effective method for concentration. In immunomagnetic separation (MS) step, acid separation is clearly more effective by comparison to heat separation. Based on experimental results, a procedure with higher recovery (*Cryptosporidium* more than 30%, *Giardia* more than 40%) and lower cost (only 55% of the “method 1623”) for detecting *Cryptosporidium* and *Giardia* was suggested. Examination of the recovery of each step in this procedure indicates that the main recovery-limited step of low-turbidity (1 NTU) water is concentration, while that of high-turbidity (4 NTU) water is MS.

Key words: wastewater reclamation and reuse; *Cryptosporidium*; *Giardia*; detection

污水再生利用是解决我国淡水资源短缺的有效途径, 而预防病原性微生物的污染和保障水质安全

是其重要前提。隐孢子虫和贾第鞭毛虫 (简称“两虫”) 是两种严重威胁水质安全的病原性原生动物,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20477021); NFSC - JST 重大国际合作项目 (20510076)

由隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫孢囊引起的隐孢子虫病和贾第鞭毛虫病目前尚无有效的治疗方法。

美国国家环保总局 (USEPA) 于 1999 年 2 月制定并发布的 1623 方法是国际上最为常用的两虫标准检测方法,它包括浓缩、分离和鉴定三个步骤,即通过滤筒过滤、免疫磁性分离 (MS) 和免疫荧光 (IFA) 显微镜检来检测和计数,并借助 DAPI 染色和微分干涉 (DIC) 显微镜检观察其内部的特征结构来证实卵囊和孢囊的存在^[1]。虽然 1623 方法首次实现了两虫的同步检测,但也存在工作量大、耗时费力、成本较高、回收率偏低且不稳定等缺点^[2~5]。并且,1623 方法的参数设定主要基于饮用水水质,将其应用于再生水检测时会存在一定的不确定性。

笔者考察了 1623 方法中浓缩、分离两个主要环节的替代方案以及鉴定环节的简化方案,以便建立回收率较高且成本较低的两虫密度检测方法,并确定不同水质条件下影响两虫密度检测回收率的主要限制步骤。

1 材料与方法

1.1 水样

试验水样先后采用南方某自来水厂的原水 (地表水) 以及北京市 A、B 两污水处理厂的二沉池出水 (浊度分别约为 4.1 NTU)。水样采集后于 24 h 内运抵实验室,在 4℃ 下黑暗保存;72 h 内完成过滤、洗脱和离心浓缩,浓缩后如不立刻进行分离和鉴定,则将其置于 4℃ 下黑暗保存。

1.2 试剂和材料

絮凝剂:氯化铁 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 分析纯)、聚合氯化铝 (PAC, 分析纯)。

洗脱剂:1 g 的 Laureth-12 (美国 PALL 公司生产), 10 mL 的 1 mol/L Tris (pH 为 7.4, Sigma 公司生产), 2 mL 的 0.5 mol/L EDTA (pH 为 8.0, Sigma 公司生产), 0.15 mL 的 Antifoam A (Sigma 公司生产), 加纯水至 1 L, 当天配制当天使用。

免疫磁珠分离试剂盒: Biotec ASA, 挪威 DYNAL 公司生产。

免疫荧光染色试剂盒: EasyStain, 澳大利亚 BTF 公司生产, 内含两虫非定量阳性标样 (positive control)。

两虫定量标样: EasySeed, 澳大利亚 BTF 公司生产, 内含隐孢子虫为 (99 ± 1.4) 个, 贾第鞭毛虫为 (100 ± 1.4) 个。

荧光微球: 美国 Polysciences 公司生产, $\varnothing 4.5 \mu\text{m}$ (称为“隐孢子虫微球”) 和 $\varnothing 20.0 \mu\text{m}$ (称为“贾第鞭毛虫微球”) 两种规格, 激发波长为 441 nm, 发射波长为 486 nm。

滤膜: 美国 Minipore 公司生产, $\varnothing 47 \text{ mm}$, 孔径为 $1.2 \mu\text{m}$ 。

1.3 试验方法

按照 1623 方法进行, 各试验中所使用的水样和添加的标样如表 1 所示。

表 1 各试验中使用的水样和标样

Tab 1 Water sample and control sample in experiments

项目	水样	标样
浓缩	对自来水厂原水进行絮凝	两虫非定量标样
	对 A 污水厂二沉池出水进行膜过滤	荧光微球、两虫非定量标样
分离	A、B 两污水厂二沉池出水	两虫非定量标样
鉴定	A、B 两污水厂二沉池出水	两虫非定量标样
流程检测	A 污水厂二沉池出水	两虫定量标样

1.3.1 浓缩

化学絮凝。由于原水中的两虫水平很低, 故取样后人为加入两虫非定量标样。分别投加不同剂量 ($0 \sim 8 \text{ mg/L}$) 的两种絮凝剂 ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 PAC), 先以 300 r/min 搅拌 2 min, 再于 40 r/min 下搅拌 15 min, 静沉 20 min 后分别测定上清液和沉淀中两虫的密度。检测沉淀中的两虫密度时, 在旋涡混合器上剧烈振荡 5~10 min 以打碎絮体。

膜过滤。采用荧光微球作为两虫的替代物^[6~9], 过滤后选择膜溶解、刮擦和洗脱三种方式回收膜表面附着的沉淀物。将沉淀物转移至井形玻片的计数井中, 室温下干燥后利用荧光显微镜进行计数。

1.3.2 分离

所采用的分离方法与 1623 方法中的免疫磁性分离过程基本相似, 但具体参数设置有所不同。在最后的磁珠和两虫解离环节, 比较了酸解离和热解离两种方式。主要步骤如下:

将浓缩得到的离心沉淀物全部转移至平边试管内, 并使之重新悬浮于 10 mL 缓冲液中, 分别加入 100 μL Dynalbeads Crypto-Combo 和 100 μL Dynalbeads Giardia-Combo 后置于 Dynal 反应混合器上, 于室温、18 r/min 下旋转 1 h。

取下平边试管置于磁珠收集器 (MCP-1)

上,旋转 3~5 min 后弃去上清液;从 MCP-1 上取下平边试管,用 1 mL 的 1 × SL - buffer - A 将磁珠转移至微量离心管中;将微量离心管放至磁珠收集器 (MCP-M) 上,上下转动 180 并持续 3~5 min,待磁珠形成棕色球体时立即用吸头吸走上清液;再次加入 1 mL 1 × SL - buffer - A 使之悬浮,冲洗磁珠后用磁铁收集,重复 3 次。

酸解离。从 MCP-M 上取下微量离心管,加入 50 μL 的 0.1 mol/L HCl 后剧烈振荡 60 s,静置 10 min 后再振荡 60 s,静置 10 min (同时准备并形玻片,并在计数井中加入 5 μL 的 1.0 mol/L NaOH) 后再次振荡 60 s 将微量离心管置于 MCP-M 中静置 60 s 将微量离心管中液体全部转移至并形玻片的计数井中,室温下干燥。

热解离。将微量离心管置于 80 °C 水浴锅内温育 10 min。

1.3.3 鉴定

向每个并形玻片计数井中各加 50 μL 甲醇 (分析纯),室温下干燥后再加 50 μL 染色液,于 37 °C 暗处染色 60~90 min。用 Fixing Buffer 洗涤残留染色液,加入一滴包埋介质 (Mounting Media) 后盖片进行镜检。

2 结果与讨论

2.1 浓缩

2.1.1 化学絮凝

分别考察了水处理过程中常用的氯化铁和聚合氯化铝 (PAC) 对两虫的富集效果。

在氯化铁絮凝试验中,经过后续的染色、镜检只能观察到暗红色的铁絮体,由于铁絮体的磁性吸附和包裹等作用,没有检测到两虫。试验中使用的能够与两虫特异结合磁珠的主要成分是 Fe_3O_4 , 磁铁在收集磁珠的同时会吸附包裹有各种杂质的铁絮体。大量铁絮体在有限磁铁作用面积上的聚集影响了磁珠的吸附,从而破坏了对两虫的收集过程。另外,在絮凝过程中两虫被包裹在致密的铁絮体内,即使剧烈振荡也不能使之释放出来,也就无法通过后续的染色和镜检观察到。

为了考察铝絮凝法对两虫的浓缩效果,分别测定了不同 PAC 投量下上清液和沉淀中的两虫数量 (分别为 S_1 和 S_2), 根据以下公式分别计算对上清液中两虫的去除率,即理论沉淀检出率 (P) 和絮凝法的回收率 (R)。

$$P = (1 - S_1 / T) \times 100\% \quad (1)$$

$$R = S_2 / (T \cdot P) \times 100\% \quad (2)$$

当 PAC 投加量为零时,上清液与沉淀中的两虫检出量之和即为水样中两虫的总量 (T)。试验结果 (如图 1) 表明,随着 PAC 投量的增加则絮凝沉降效果越来越好,对上清液中两虫的去除率不断上升,但回收率却明显下降,这是由于在较高的 PAC 投量下形成的铝絮体非常密实,将两虫包裹在其中,即使剧烈振荡仍无法完全破坏絮体,直接影响了后续的分离和染色过程,致使回收率显著降低。

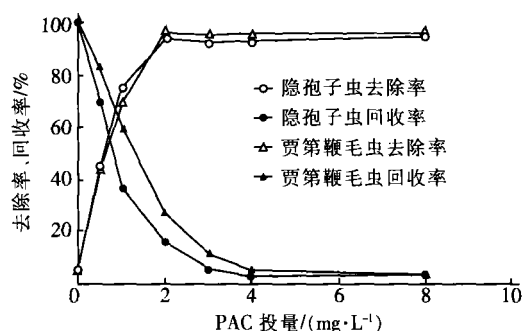


图 1 对上清液中两虫的去除率与检测回收率

Fig 1 Removal rate from supernatant and recovery of chemical flocculation method for detection of *Cryptosporidium* and *Giardia*

综上所述,采用化学絮凝法浓缩水中的两虫存在以下两个问题:第一,絮凝过程中会形成比较致密的絮体,由于卵囊和孢囊的个体非常微小,需将絮体破坏得较为完全才能将其释放出来。采用旋涡混合器剧烈振荡难以实现絮体的完全破坏,而超声或酸溶解等方式很可能对卵囊和孢囊造成破坏。第二,当颗粒物浓度等水质条件发生变化时,最佳絮凝剂投量也会改变,因而将该方法用于污水再生处理系统各工艺单元的水样测定时会发生回收率不稳定的情况,使检测结果不具可比性。因此,化学絮凝法不是理想的两虫浓缩方式。

2.1.2 膜过滤

一直以来,膜过滤法都被认为是一种回收率较高的浓缩方法,特别是过滤后将滤膜完全溶解在有机溶剂中的方式能够有效降低膜附着物在转移过程中的损失^[10]。然而,在膜过滤—溶解试验中却发现,有些滤膜即使经过较长时间浸泡并反复剧烈振荡,仍无法完全溶解于有机溶剂中,而是形成了絮状沉淀,这可能是膜成分、颗粒物质或水分的附着影响了膜溶解的效果。因此,考察了硝酸纤维素膜、醋酸

纤维素膜和混合纤维素膜在干燥和潮湿状态下的溶解情况,结果如表 2 所示。

表 2 各种膜在不同使用条件下的溶解特性

项目	纯水加标水样		二沉池出水加标水样	
	干燥溶解	潮湿溶解	干燥溶解	潮湿溶解
硝酸纤维素膜	+	+	-	-
醋酸纤维素膜	+	+	-	-
混合纤维素膜	+	+	-	-
注:“+”表示经振荡后滤膜完全溶解在丙酮中; “-”表示经振荡后滤膜无法完全溶解在丙酮中,而是形成了絮状沉淀。				

由表 2 可知,经纯水过滤后的膜能完全溶于丙酮中,而过滤二沉池出水的膜则无法完全溶解在丙酮中,表明颗粒物的附着影响了膜溶解的过程。

为了定量考察膜的不完全溶解对回收率的影响,进行了两虫非定量阳性标样投加试验,结果如表 3 所示。

表 3 3 种方法的两虫检出量比较

检测方法	隐孢子虫		贾第鞭毛虫	
	A 水样	B 水样	A 水样	B 水样
1623 方法	202		2	
膜过滤—溶解	5	2	0	2
膜过滤—洗脱	285	35	3	7

由表 3 可知,对同一水样而言,膜过滤—溶解法的检测数据最小,即与膜过滤—洗脱法和 1623 方法相比,膜的不完全溶解严重降低了对两虫的回收率。Aldom 等人通过饮用水加标试验发现膜过滤—溶解法具有良好的浓缩效果^[10],但笔者的试验结果却表明,由于颗粒物的附着会导致膜的不完全溶解,该方法并不适用于较高浊度水样的测定,而且有机溶剂的使用也会对两虫的活性产生不良影响,不利于后期活性分析试验的开展^[11,12]。

另外,研究中还通过微球投加试验考察了刮擦法和洗脱法转移膜截留物质的效果,结果如表 4 所示(取 6 次试验的平均值)。可见,与洗脱法相比,刮擦法难于将截留物质完全转移,回收率不高且受操作过程影响较大,非常不稳定,不是理想的沉淀转移方式。因此,膜过滤—洗脱法是相对理想的两虫浓缩方式。

表 4 刮擦法与洗脱法的荧光微球回收率比较

项目	刮擦法		洗脱法	
	隐孢子虫微球	贾第鞭毛虫微球	隐孢子虫微球	贾第鞭毛虫微球
均值	25.5 ± 8.6	48.8 ± 8.9	80.0 ± 3.1	82.9 ± 2.4

2.2 分离

有研究者认为,1623 方法的 MS 环节采用酸解离方式,产生了较大幅度的 pH 波动(使其偏离中性),会影响后续的染色效果,降低回收率。Ware 等人进行的自配水和水源水加标试验表明,80℃ 下温育 10 min 的热解离方式能明显提高检测的回收率^[13]。为此分别采用纯水、A 污水厂二沉池出水和 B 污水厂二沉池出水进行两虫非定量标样投加试验,比较了这两种解离方式的检测结果(见表 5)。

表 5 两种解离方式的两虫检出量比较

水样	酸解离		热解离	
	隐孢子虫	贾第鞭毛虫	隐孢子虫	贾第鞭毛虫
纯水	15	49	8	25
A 厂二沉池出水	19	50	10	17
B 厂二沉池出水	23	44	13	19

由表 5 可知,对于同一水样采用酸解离时的两虫检出量更高,说明其回收效果比热解离好,其原因是高温会在一定程度上破坏卵囊和孢囊的表面抗原,从而影响后续的免疫荧光染色过程。这与 Ware 等人的结论并不相符,经分析原因可能是两次试验中卵囊和孢囊所处的状态不同,因而对高温的敏感程度也不同。另外,在对热解离样品进行镜检时观察到有较多的卵囊和孢囊附着在磁珠上,推测是由于受热后磁珠的聚集性能变差所致。

2.3 鉴定

有研究者认为,通过免疫荧光染色可以识别绝大部分卵囊、孢囊,而后续的 DAPI 染色和微分干涉试验的确认率很不理想,所以可直接通过荧光染色计数得出结果^[13]。研究中观察到的同样能发出绿色荧光的两虫类似物质主要分为两种:絮状假阳性物和囊泡状假阳性物。镜检显示,无论从大小还是形状,均可通过观察将其和两虫直接区分开。因此,一般情况下通过免疫荧光染色后的显微镜检即可对

两虫进行确认。

2.4 再生水中两虫密度的检测流程

根据上述试验结果,将再生水中两虫的检测流程设计为:采集水样→膜过滤→洗脱→离心浓缩(6 310 r/min, 10 min)→MS(酸解离)→IFA 计数。

通过纯水和二沉池出水的定量标样投加试验,考察上述检测流程的回收率以及水质对各环节回收率的影响,结果如表 6 所示。

表 6 设计检测流程的回收率

Tab 6 Recovery of design procedure for detection of

Cryptosporidium and *Giardia* %

水样	隐孢子虫			贾第鞭毛虫		
	浓缩	MS + IFA	总回收率	浓缩	MS + IFA	总回收率
纯水	33.3	93.0	31.0	45.5	92.3	42.0
二沉池出水	81.8	45.2	37.0	91.1	49.4	45.0

由表 6 可以看出,对两虫的回收率明显高于 1623 方法的接受标准 (>24%),其中纯水加标试验的回收率与 Hu 等的结果类似^[14]。另外, Hu 等通过自来水加标试验发现,1623 方法的浓缩环节是回收率的主要限制因素,后续的 MS - IFA 步骤对隐孢子虫和贾第鞭毛虫的回收率可分别高达 92.0%和 89.0%。但是,笔者的二沉池出水加标试验结果却显示分离鉴定环节为限制回收率的主要步骤。这表明,原水杂质成分的增加(使浊度升高)虽有利于浓缩回收,但却对两虫与磁珠的特异性结合产生了不良影响,这与 Hsu 等的研究结果相同^[15]。

与 1623 方法相比,该密度检测流程在提高了回收率的同时也使试验成本明显降低,特别是采用膜过滤代替囊式滤筒过滤显著降低了耗材价格(囊式滤筒为 680 元/个水样,孔径为 1.2 μm 的滤膜价格为 20 元/个水样)。根据目前的市场报价,免疫磁珠分离试剂为 640 元/个水样,免疫荧光染色试剂为 175 元/个水样。因此,所设计检测流程的成本约为 835 元/个水样,比 1623 方法(约 1 495 元/个水样)降低了约 45%。

3 结论

与化学絮凝法相比,膜过滤是比较理想的两虫浓缩方式,且采用洗脱方式转移过滤后膜上的截留物质可以得到比膜溶解法和刮擦法更高的回收率。

在免疫磁性分离 (MS) 环节,酸解离比热解离的效果好。

免疫荧光染色 (IFA)、镜检环节观察到的

假阳性物质可通过形状或大小与两虫区分开来,一般情况下可不进行后续的 DAPI/DIC 确认步骤。

对于浊度较低 (浊度约 1 NTU) 的水样,浓缩是整个流程回收率的限制步骤,而对于浊度较高 (浊度约 4 NTU) 的水样,MS + IFA 是回收率的限制步骤。

所设计的再生水中两虫检测流程与 1623 方法相比,回收率得到了明显提高,而试验成本却降低了 45%。

参考文献:

[1] USEPA. Method 1623: *Cryptosporidium* in Water by Filtration/ MS/IFA [M]. EPA, 1999.

[2] 宗祖胜,胡洪营,张金松,等. 用 PCR 技术检测水中隐孢子虫 [J]. 中国给水排水, 2004, 20 (8): 91 - 93

[3] Hsu B, Huang C, Hsu Y, *et al*. Evaluation of two concentration methods for detecting *Giardia* and *Cryptosporidium* in water [J]. Water Research, 2001, 35 (2): 419 - 424

[4] 肖淑敏,李国清,朱兴全. 水中隐孢子虫的检测与活性鉴定 [J]. 中国兽医科技, 2003, 33 (7): 74 - 79

[5] Carey C M, Lee H, Trevors J T. Biology, persistence and detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium hominis* oocyst [J]. Water Research, 2004, 38 (4): 818 - 826

[6] Emelko M B, Brown T. How conditions and coagulant type can affect *Crypto* removal [J/OL]. Environmental Science & Engineering, www. esmag. com, 2003 - 05

[7] Emelko M B, Huck P M, Douglas I P. *Cryptosporidium* and microsphere removal during late in-cycle filtration [J]. American Water Works Association Journal, 2003, 95 (5): 173 - 182

[8] Kim H S, Shikiya J, Akiba M, *et al*. Examination of monodispersed artificial particles similar to *C. parvum* oocysts in size as the removal surrogate of *Cryptosporidium* [J]. Journal of Water Supply: Research and Technology, 2004, 53 (1): 51 - 59

[9] Emelko M B, Huck P M. Microspheres as surrogates for *Cryptosporidium* filtration [J]. American Water Works Association Journal, 2004, 96 (3): 94 - 105

[10] Aldom J E, Chagla A H. Recovery of *Cryptosporidium* oocysts from water by a membrane filter dissolution method [J]. Lett Appl Microbiol, 1995, 20 (3): 186 - 187.

(下转第 29 页)



- 1999, 33 (4): 895 - 908
- [4] 程洁红,张善发,陈华,等. 自热式高温好氧消化污泥稳定化系统 [J]. 中国给水排水, 2005, 21 (7): 9 - 13
- [5] Murthy Sudhir N, Novak John T, Holbrook David, *et al* Mesophilic aeration of autothermal thermophilic aerobically digested biosolids to improve plant operations [J]. Water Environment Research, 2000, 72 (4): 476 - 483
- [6] Houghton J I, Quamby J, Stephenson T Municipal wastewater sludge dewaterability and the presence of microbial extracellular polymer [J]. Wat Sci Technol, 2001, 44 (2 - 3): 373 - 379
- [7] 国家环保局. 水和废水监测分析方法 (第 3 版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1997.
- [8] Murthy Sudhir N, Novak John T, Holbrook David, *et al* Mesophilic aeration of autothermal thermophilic aerobically digested biosolids to improve plant operations [J]. Water Environment Research, 2000, 72 (4): 476 - 483
- [9] Murthy Sudhir N, Novak John R, Holbrook David, *et al* Optimizing dewatering of biosolids from autothermal thermophilic aerobic digesters (ATAD) using inorganic conditioners [J]. Water Environment Research, 2000, 72 (6): 714 - 721
- [10] Kim Young Kee, Kwak Myung Shin, Lee Sang Baek, *et al* Effects of pretreatment on thermophilic aerobic digestion [J]. Journal of Environmental Engineering, 2002, 128 (8): 755 - 763
- [11] Zhou Jian-peng, Mavinic Donald S, Kelly Harlan G, *et al* Effects of temperatures and extracellular proteins on dewaterability of thermophilically digested biosolids [J]. J of Environ Eng Sci, 2002, 1 (6): 409 - 415
- [12] Novak J T, Mary E Sadler, Sudhir N Murthy Digestion studies: proteins influence conditioning dewatering [J]. Biosolids Technical Bulletin, Wat Env Fed, 2000, 6 (1): 4 - 8
- [13] 刘壮, 杨造燕, 田淑媛. 活性污泥胞外聚合物的研究进展 [J]. 城市环境与城市生态, 1999, 12 (5): 54 - 57.
- [14] Higgins M J, Novak J T Dewatering and settling of activated sludges: the case for using cation analysis [J]. Wat Env Res, 1997, 69 (2): 225 - 233
- [15] Higgins M J, Novak J T The effect of cations on the settling and dewatering of activated sludges: laboratory results [J]. Wat Env Res, 1997, 69 (2): 215 - 224

作者简介: 程洁红 (1969 -), 女, 上海人, 讲师、博士研究生, 研究方向为水污染控制。

电话: (021) 54742817

E-mail: cjh12070@pub.cz.jsinfo.net

rwzhu@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2005 - 11 - 22

(上接第 23 页)

- [11] McCuin R M, Bukhari Z, Clancy J L Recovery and viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia* intestinalis cysts using the membrane dissolution procedure [J]. Can J Microbiol, 2000, 46 (8): 700 - 707.
- [12] Carreno R A, Pokorny N J, Weir S C Decrease in *Cryptosporidium parvum* oocyst infectivity in vitro by using the membrane filter dissolution method for recovering oocysts from water samples [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 6: 3309 - 3313
- [13] Ware M W, Wymer L, Alan Lindquist H D, *et al* Evaluation of an alternative MS dissociation procedure for use with method 1623: detection of *Cryptosporidium* in water [J]. Journal of Microbiological Methods, 2003, 55: 575 - 583
- [14] Hu J, Feng Y, Ong S L, *et al* Improvement of recoveries for the determination of protozoa *Cryptosporidium* and *Giardia* in water using method 1623 [J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, 58: 321 - 325
- [15] Hsu B, Huang C Performances of the immunomagnetic separation method for *Cryptosporidium* in water under various operation conditions [J]. Biotechnol Prog, 2001, 17 (6): 1114 - 1118

作者简介: 张彤 (1981 -), 女, 天津人, 硕士研究生, 主要从事污水再生利用研究。

电话: (010) 62796953

E-mail: zt00@mails.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2005 - 11 - 21