

# 应用拟杆菌作为水体粪源污染指示菌的研究进展

马小雪<sup>1</sup>, 杨 阳<sup>1</sup>, Randy A Dehlgren<sup>1,2</sup>, 商 栩<sup>1</sup>, 张明华<sup>1,2</sup>

(1. 温州医学院 水域科学与环境生态研究所, 浙江 温州 325035; 2. 美国加州大学 戴维斯分校 土壤、大气与水资源系, 加州 戴维斯 95616, 美国)

**摘要:**粪源污染是水环境安全的重要威胁。传统的指示微生物在水体粪源检测中存在较多局限性, 难以准确溯源水体所受粪源污染。拟杆菌属微生物因其具有在人畜肠道中的绝对数量优势和突出的粪源指示作用等优点, 在粪源污染监测中日渐受到重视。该文阐述了拟杆菌作为指示微生物在应用于示踪水体粪源污染时的优势, 并针对水环境中拟杆菌的检测方法及其在受污水体中指示粪源污染的应用进行了概述。

**关键词:**病原微生物; 指示菌; 拟杆菌

**中图分类号:** X502

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-2767(2011)10-0150-05

水体微生物污染, 特别是饮用水受病原菌污染后导致的传染性疾病可给人类带来巨大的灾难。1991年1月秘鲁爆发霍乱, 并蔓延至中美洲和南美洲各国, 共出现病例104万人, 致死约万人<sup>[1]</sup>。国际在线消息: 2010年中国驻喀麦隆经商参处5月15日透露说, 喀麦隆霍乱造成417人死亡, 数例疑似。据了解, 喀麦隆自5月6日发生霍乱以来, 截止日前传染病已经造成417例死亡, 6239人遭受传染, 在首都雅温得和经济首都杜阿拉发现数例疑似病例。据联合国环境规划署(UNEP)的统计, 人类约有80%的疾病与细菌感染有关, 而其中60%以上的疾病是通过饮用水传播的。每15s就有1名儿童因得不到清洁饮用水而死亡, 每年有340万人因直接或间接饮用受到细菌、病毒和寄生虫污染的水而死亡<sup>[2]</sup>。水体致病微生物污染作为全球性环境问题而备受关注, 如何对水体中的致病微生物进行快速有效的检测则是应对该问题的关键。

然而, 就目前技术手段而言, 对水体中存在的各种致病微生物进行直接检测仍难以实现。水中致病微生物不仅种类繁多、数量较少、较易变异和死亡, 且目前对多数水中病原体进行有效定量分

离的方法还不成熟, 因此在实践中通常以易检测的水中指示微生物代替致病微生物来估计污染状况<sup>[3-6]</sup>。在各类指示微生物中, 大肠菌群(coliform group)作为温血动物肠道中最普遍、数量较多的一类细菌, 在水环境中具有较强的抗逆性且数量与肠道致病菌呈一定的相关性, 比较符合对粪便污染检测指示微生物的要求。自从1905年大肠菌群计数法的建立和使用以来, 大肠菌群就作为指示微生物指标而最早运用于指征致病微生物污染, 之后粪大肠菌群、总大肠菌群、肠球菌属、产气荚膜梭菌等肠道微生物也相继成为指示菌指标<sup>[5]</sup>。在长达一个多世纪的使用过程中, 传统的指示菌逐渐暴露出与沙门氏菌等致病菌的相关性差、无法辨识粪源污染等局限性<sup>[7-18]</sup>。于是, 一类在人体肠道中大量存在却长期被环境监测和公共卫生机构所忽略的微生物——拟杆菌, 因其在肠道中的数量优势、粪源指示作用等特点在最近几年受到越来越多的关注, 为指示水体所受的粪源污染提供了一种新的途径。在美国环境规划署的最近流行病调查中, 鉴于拟杆菌具有成为指示水体致病微生物污染的潜在可能而将其列为一项调查对象<sup>[19]</sup>。

## 1 拟杆菌的生物学特性

拟杆菌是革兰氏阴性无芽孢的专性厌氧杆菌, 早在19世纪末(1898)就被Veillan和Zuber发现和描述。由于当时拟杆菌属的定义不严格, 许多菌株被置于这个属中。20世纪末由Shah(1983)和Collins(1987)提议并严格定义拟杆菌属的界限, 以保证属的同源性, 修改后拟杆菌属的定义是<sup>[4]</sup>: (1)严格厌氧、革兰氏阴性和不产芽孢的杆菌; (2)分解糖, 而且主要的代谢产物是乙酸和琥珀酸; (3)含有己糖单磷酸支路-戊糖磷酸途径的酶活; (4)DNA的(G+C)含量为40~

收稿日期: 2011-06-25

基金项目: 温州市科技计划资助项目(H20100052); 温瑞塘河GIS研究与管理平台资助项目(20082780125); 基于GIS平台的流域水环境承载力及生态修复研究示范资助项目(2008C03009)

第一作者简介: 马小雪(1986-), 女, 山东省潍坊市临朐县人, 在读硕士, 从事水环境污染生态学研究。E-mail: maxiaoxue029@126.com。

通讯作者: 张明华(1955-), 女, 浙江省温州市人, 博士, 博士生导师, 教授, 从事3S(GIS、GPS、PS)技术应用、湿地生态学、恢复生态学、水质生态风险评估等领域的应用及研究。E-mail: mhz\_gis@gmail.com。

48 mol%;(5)含有神经鞘脂;(6)含有长链脂肪酸和混合物,并主要是直链饱和、反异-甲基分支和异-甲基分支酸;(7)甲基萘醌以 MK-10 和 MK-11 为主要成分;(8)肽聚糖中的氨基酸以 meso-二氨基庚二酸为主。

1.1 拟杆菌属的鉴别特征

作为一类独特的细菌,拟杆菌是少数能合成

鞘脂的菌种之一。拟杆菌是革兰阴性多形性小杆菌,大小约(0.8~1.3) $\mu\text{m}\times(1.6\sim8.0)\mu\text{m}$ ,呈假分枝状或短链状排列。在含糖的液体培养基中多为长丝状或其它形状。无芽孢、无鞭毛、专性厌氧、不产孢子。它们分解糖或蛋白质,但不产色素,根据不同底物,产物主要是乙酸或琥珀酸。氯化血素、维生素 K 和胆盐能催进生长(见表 1)。

表 1 拟杆菌属的鉴别特征

鉴别指标	主要形态	细胞大小	运动性	嗜热	生长范围	最适	发酵代谢
参数	可变	0.8~1.3 $\mu\text{m}\times1.6\sim8.0\mu\text{m}$	—	—	36~39 $^{\circ}\text{C}$	37 $^{\circ}\text{C}$	+/-
鉴别指标	主要终产物	DNA(G+C)/mol%	主要生境	鞭毛周生	革兰氏阴性	致病性	色素产生
参数	A,F,L,P,S	40~48	厌氧生境	+	+	+/-	—

注: + 为阳性; - 为阴性; A 为乙酸; L 为乳酸; F 为甲酸; P 为丙酸; S 为琥珀酸; 可变可为细胞可呈直杆状、弧状、螺旋状或多形态,但不分枝。

1.2 拟杆菌群的生境

拟杆菌是化能有机营养的专性厌氧杆菌,代谢类型以发酵或无氧呼吸为主。大部分拟杆菌是共栖体,拟杆菌属及其关联细菌常定植于人和动物的上呼吸道、肠道和雌性生殖道中。每克正常人类粪便中大约有  $3.2\times10^{10}$  个拟杆菌属菌,其中模式种“脆弱拟杆菌”群的细菌占 2/3 以上<sup>[4]</sup>。因为氧气对其来说是有害的甚至是致命的,所以在外界环境中主要生存于污泥、污水的消化池和无氧气的湖底沉积物等生境中。

2 拟杆菌属作为水体指示菌的优点

掌握粪源污染状况对评价水污染的环境健康风险,指导卫生防疫部门及时采取应对措施是至关重要的。长期以来, *E. coli*、*Enterococcus*、*Total/fecal coliforms*、*Bacteroides* 等指示微生物被广泛应用为溯源粪便污染的指标。但越来越多的研究表明,这些传统的指示微生物在示踪粪源污染时存在各种不足。如 *E. coli* 易受温度变化的影响从而使得在热带和亚热带不能很好地指示病原微生物<sup>[6]</sup>, *Enterococcus* 在水中仍能繁殖从而使得检测结果与实际存在差异,不能很好地起到指示作用等缺点<sup>[6]</sup>。相比而言,拟杆菌有着得天独厚的作为粪源指示菌的优势,主要包括:

2.1 拟杆菌属在人体肠道的数量中占绝对优势

在人体肠道中经常生活着 60~400 种不同的微生物,总数可达数百万亿个,粪便干重的 1/3 左右即为细菌。厌氧菌是肠道正常菌群的主体(约占 99%),尤其是其中的拟杆菌类(*Bacteroides* spp.)、双歧杆菌类(*Bifidobacterium* spp.)、乳杆菌类(*Lactobacillus* spp.)等更是优势菌群。每克人类粪便中有超过  $1\times10^{10}$  个拟杆菌,而每克人类粪便中只有约  $1\times10^6$  个肠杆菌属和  $1\times10^3$  个肠

球菌属微生物<sup>[3-5]</sup>。拟杆菌的含量要比传统指示菌(肠杆菌、肠球菌)高 4~7 个数量级,可见拟杆菌属在人体肠道中占绝对的数量优势,理论上拟杆菌的数量级优势使其检测易于埃希大肠杆菌和肠球菌等。

2.2 在受污染水体中不能繁殖,存活期短

*E. coli*、*Enterococcus* 等传统指示菌不但在天然水体中能较好存活,当条件适宜时还能够繁殖,在很大程度上影响了这些指示菌对粪源污染的指示效果。而拟杆菌属在人体和水生境中的生理行为存在很大的差异,尤其所需的厌氧条件在天然水体中很难满足。因此,拟杆菌属在天然水体中是不存在的。即使在受污水体中存在,也不会存在很长时间(大约 1~2 d),并且在水体中不能繁殖<sup>[20]</sup>。这种在受污水体中的存期短、不繁殖的优点使得拟杆菌与病原微生物之间的关联更为密切,相关性分析所得结果更具说服力。此外,根据受污水体中拟杆菌的存在与否即可判定水体最近是否受到污染。

2.3 区分粪源污染来自人类还是畜类

拟杆菌不仅在人类大肠中在数量上是优势菌,检测结果显示其在猪、牛、羊、兔、鸡、麻鸭和鲤鱼等畜禽体内也为优势菌群。虽然在人体和动物肠道中都普遍存在,且占有绝对的数量优势,然而在人和不同动物体内的拟杆菌的 16S rRNA 基因序列的某些片段是存在差异的,目前许多学者开始利用人类、猪和反刍动物等的肠道内拟杆菌的 16S rRNA 基因序列的差异性研究水中粪便污染的来源问题。例如 Kildare 等用 BacUni-UCD, BacHum-UCD, BacCow-UCD, BacCan-UCD 的 5'~3'端的寡核苷酸序列(16S rRNA)作为特异引物进行荧光定量 PCR 检测已知粪源污染的污

水中的拟杆菌,发现利用 BacHum-UCD 探针对人类粪便污染的 18 个样品可检测出 12 个样来,检出率为 66.7%,而对其余的马和狗等样品检出率基本为 0。同样的 BacCow-UCD 对马等反刍动物的粪便污染检出率为 100%,BacCan-UCD 对狗的粪便污染检出率为 62.5%<sup>[21]</sup>。

### 3 水体中拟杆菌的分子检测方法

传统的拟杆菌属定性定量检测法主要是通过厌氧培养后进行生化鉴定和平板计数,这种方法不但费时费力,而且时常会引起鉴定、计数失误<sup>[22]</sup>。近年来,核酸相关检测技术逐渐成为国内外对拟杆菌的常用检测与鉴定手段,其中以 16S rRNA 基因为基础的研究在拟杆菌粪源检测的研究中起到越来越重要的作用。

#### 3.1 以 16S rRNA 为引物的 PCR 技术

PCR(Polymerase Chain Reaction)即聚合酶链式反应,是体外酶促合成特异 DNA 片段的一种方法,类似于 DNA 的天然复制过程。由高温变性、低温退火及适温延伸等几步反应组成。将拟杆菌 16S rRNA 基因的保守区作为通用引物可对水中拟杆菌进行 PCR 扩增,从而早期快速检测水中拟杆菌存在与否,并通过对扩增产物进一步分析,对拟杆菌进行分类和鉴定,从而及时准确地对水污染进行防治及遏制疾病的传播<sup>[1,23]</sup>。Bernhard 和 Field 以 CF128F(CCAACYTTC-CCGWTACTC)、HF183F(ATCATGAGTTCA-CATGTCCG)等为引物对反刍动物和人类的粪污染中的拟杆菌进行检测,结果 13 个人粪样品以 HF183F 为引物可扩增的有 11 个样品,CF128F 引物没有样品扩增,然而,19 个反刍动物的样品以 HF183F 为引物只有 1 个样品扩增,CF128F 引物可扩增 19 个样品。从而确定了拟杆菌的 PCR 分子检测法,对粪源污染检测是一大贡献<sup>[24-25]</sup>。

#### 3.2 16S rRNA(rDNA)基因序列分析

16S rRNA 基因是细菌染色体上编码 rRNA 相对应的 DNA 序列,存在于所有细菌的染色体基因组中,并且也是较保守的序列之一。目前,有上千种病原菌的 16S rRNA 基因序列均已测出,因此在细菌病原体 PCR 扩增序列中被选为扩增目标。随着分子生物学和分子遗传学的飞速发展,16S rRNA 在水体病原微生物学的研究中得到越来越广泛地应用。通过 PCR 扩增细菌的 16S rRNA 基因片段,对纯化后的 PCR 扩增产物进行测序,与 GenBank 中的基因信息比较,根据基因同源性的 高低而对细菌进行鉴定。16S

rRNA(rDNA)基因的序列检测已被成功地建立为一种鉴定拟杆菌种、属的标准方法<sup>[25]</sup>。由于人体和畜类基因中的 16S rRNA 序列存在一定的差异,基于此特点 16S rRNA 基因测序被广泛地应用于水体粪源污染的研究中<sup>[21,26-27]</sup>。

#### 3.3 基于 16SrRNA 的荧光定量 PCR

荧光定量 PCR 是近年发展起来的一种新的实时定量检测特定核酸的技术,它是核酸探针技术、荧光共振能量传递技术和 PCR 技术的有机结合。荧光探针是荧光定量 PCR 的核心,其不仅具有普通 PCR 的高灵敏性,而且可以通过光电传导系统直接探测 PCR 扩增过程中荧光信号的变化以获得定量结果<sup>[28-30]</sup>。张薇薇等人从 GenBank 中下载拟杆菌属细菌 16S rRNA 基因序列并进行同源性比较,选择保守区段进行引物和探针的设计,对反应条件进行优化,建立了拟杆菌属实时荧光定量 PCR 检测方法,为拟杆菌属的快速检测以及粪源定量检测分析提供有用的工具<sup>[31]</sup>。

### 4 拟杆菌属在水体中作为病原微生物指示菌的应用

#### 4.1 饮用水中拟杆菌指示病原微生物的应用

饮用水中潜在的致病菌风险对人体健康构成显著威胁,已知通过饮用水传播的病原微生物主要从属于细菌、病毒、原生动物等门类,例如伤寒杆菌、痢疾杆菌、霍乱弧菌等极易通过饮用水而引起细菌性肠道传染病。及时溯源水体病原微生物及粪指示微生物,对于人类健康的风险评价具有重要的意义。因此,拟杆菌在饮用水中的粪源指示作用受到广泛重视。Saunders 等人用 MPN、PCR、FISH 等几种不同的方法对丹麦用于生活饮用的未消毒的地下水中 *E. coli*、Total coliforms、*Bactericides* 的含量和存在时间之间的关系进行研究,试图找到传统指示菌与拟杆菌的粪源指示作用的差异性,并希望找到一种适合拟杆菌检测的最优方法。其实验结果肯定了用拟杆菌分子标记法检测未氯化的生活饮用水的粪源指示作用的有效性<sup>[32]</sup>。

#### 4.2 生活污水中拟杆菌的病原微生物指示应用

人们日常生活所产生生活污水中的主要污染物包括生活废料和人的排泄物。生活污水一般不含有毒物质,但是它具有适于微生物繁殖的条件,含有大量病原微生物及寄生虫。为了获知生活污水中的病原微生物污染状况,一种新型的识别粪便污染源技术——微生物源示踪(Microbial source Tracking, MST)逐步发展起来。而源指示物的选择是 MST 技术的关键部分,拟杆菌独特的

粪源指示作用优势使其成为首选。Silkie 和 Nelson 以人类、狗、牛和马的 16S rRNA 为目的基因,用 QPCR 方法对下水道中的水体进行检测的结果显示,人类的拟杆菌含量占 82%,狗、牛和马的含量均不到 10%,并且 *Bactericides* 在污水中的检出值要明显高于 *E. coli* 和 *Enterococcus*。这一研究有力地证明了拟杆菌在污水中敏感的指示作用,以及其作为粪源指示作用的可行性<sup>[30]</sup>。

#### 4.3 游憩水体中拟杆菌的病原微生物指示应用

病原体除了可以通过不恰当处理的饮用水和烹饪水传播,另一类十分常见的传播途径是通过被病原体传染了的用于游泳和洗澡等的游憩用水。游憩用水包括淡水游憩场所如池塘、溪流和湖泊,另外还有公共游泳池和涉水池<sup>[3]</sup>。携带病原菌(如消化系统疾病、呼吸系统疾病和皮肤病)的游泳者,可感染水体和沙体等,从而间接传染给其他的游泳者,游泳者的感染机率明显高于非游泳者<sup>[9]</sup>。以美国为例,在过去的 12 a 中平均每年暴发 13 起由于游憩用水引起的水传播性疾病。目前美国环保署采用肠球菌( $\leq 330$  个 $\cdot\text{L}^{-1}$ )和大肠杆菌( $\leq 1\ 260$  个 $\cdot\text{L}^{-1}$ )作为游憩水体中的粪指示菌指标,而到 2012 年美国环保署将制订一种新的游憩水体微生物安全标准,即用 QPCR 检测的水体中拟杆菌的含量将被列入其中<sup>[33-35]</sup>。拟杆菌的粪源指示作用正在不断验证之中,如 Reagan R, Blackwood 等人用 MF、QPCR 方法对游憩水体中的 *Bactericides* sp., *E. coli* 和 *Enterococcus* sp. 进行检测,结果表明 *Bactericides* 与 *E. coli* (MF)、*Enterococcus* (MF) 和 *Enterococcus* (QPCR) 的相关性分别为 0.72、0.803 和 0.794,说明 *Bactericides* 可用于检测游憩水体的受污情况<sup>[20]</sup>。

## 5 展望

拟杆菌在粪源污染示踪中的应用正日渐受到重视,但还不足以替代现有应用于粪源微生物指示的其它微生物种类。拟杆菌的分子检测方法目前正在迅速发展,以 16S rDNA/RNA 为基础的分子生物学技术正日益成为拟杆菌检测和分析的重要手段,各种技术手段相互补充将完善拟杆菌作为粪源指示微生物的有效性。包括季节变化对拟杆菌作为粪源指示菌的影响、拟杆菌在地理空间上的大尺度分布特征和其在二次栖息地的生存能力、水环境中拟杆菌与病原微生物(如沙门菌等)之间的相关性等领域都是今后的研究重点,以更好地对水体受病原菌污染的环境健康风险做出准确评估。

## 参考文献:

- [1] 黄敏. 微生物学与微生物学检验[M]. 北京:北京人民军医出版社,2006.
- [2] 杨懿. 水污染及对人体健康的影响[J]. 中国煤炭工业医学杂志,2009,12(9):1427-1428.
- [3] 周德庆. 生物学教程[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2002.
- [4] 刘志恒. 现代微生物学[M]. 2 版. 北京:科学出版社,2008.
- [5] BROCK 微生物生物学(上/下)[M]. 李明春,杨文博,译. 北京:北京科学出版社,2009.
- [6] 黄秀梨,辛明秀. 微生物学[M]. 3 版. 北京:高等教育出版社,2009.
- [7] Mc Feters G A. Drinking water microbiology: progress and recent developments[M]. Berlin:Springer,1990.
- [8] Mc Feters G A, Bissonnette G K, Jezeski J J, et al. Comparative survival of indicator bacteria and enteric pathogens in well water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1974,27:823-829.
- [9] Scott T, Rose J B, Jenkins T M, et al. Microbial source tracking: current methodology and future directions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 5796-5803.
- [10] Simpson J M, Santo Domingo J W, Reasoner D J. Microbial source tracking: state of the science [J]. Environmental Science and Technology, 2002, 24: 5279-5288.
- [11] Desmarais T R, Solo-Gabriele H M, Palmer C J. Influence of soil on fecal indicator organisms in a tidally influenced subtropical environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 1165-1172.
- [12] Hurst C J, Crawford R L, Knudsen G R, et al. Manual of Environmental Microbiology, Seconded[M]. Washington, DC: ASM Press, 2002.
- [13] Field K G, Bernhard A E, Brodeur T J. Molecular approaches to microbiological monitoring: fecal source detection[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2003, 81: 313-326.
- [14] Griffin D W, Donaldson K A, Paul J H, et al. Pathogenic human viruses in coastal waters[J]. Microbiol, 2003, 16: 129-143.
- [15] Noble R T, Fuhrman J A. Enteroviruses detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction from the coastal waters of Santa Monica Bay, California: low correlation to bacterial indicator levels [J]. Hydrobiologia, 2005, 460: 175-184.
- [16] Horman A, Rimhanen-Finne R, Maunula L, et al. *Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., *Noviruses*, and indicator organisms in surface water in southwestern Finland, 2000-2001[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70: 87-95.
- [17] Christopher D. Sinigalliano. Traditional and molecular analyses for fecal indicator bacteria in non-point source subtropical recreational marine waters[J]. Water Research, 2010, 44: 3763-3772.
- [18] Charles Hagedorn, Liang Xinqiang. Current and future trends in fecal source tracking and deployment in the Lake Taihu Region of China[J]. Physics and Chemistry of the

- Earth, 2010, 36(9-11): 352-359.
- [19] Wade T J, Calderon R L, Sams E, et al. Rapidly measured indicators of recreational water quality are predictive of swimming-associated gastrointestinal illness[J]. Environmental Health Perspectives, 2006, 114(1): 24-28.
- [20] Reagan R, Converse. Rapid QPCR-based assay for fecal *Bacteroides* spp. as a tool for assessing fecal contamination in recreational waters[J]. Water Research, 2009, 43: 4828-4837.
- [21] Beverly J Kildare, Christian M Leutenegger. 16S rRNA-based assays for quantitative detection of universal, human-, cow-, and dog-specific fecal *Bacteroidales*: A Bayesian approach[J]. Water Resreach, 2007, 41: 3701-3715.
- [22] 卞广林. 荧光定量 PCR 检测脆弱类杆菌的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2000.
- [23] 沈萍. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [24] Anne E. Bernhard and Katharine G. Field. A PCR assay to discriminate human and ruminant feces on the basis of host differences in *bacteroides-Prevotellagenes* encoding 16S rRNA[J]. Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4571-4574.
- [25] Bernhard A E, Field K G. Identification of nonpoint sources of fecal pollution in coastal waters by using host-specific 16S ribosomal DNA genetic markers from fecal anaerobes[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 1587-1594.
- [26] Liu Rulong, Miranda H Y Chiang. Host-specific 16S rRNA gene markers of *Bacteroidales* for source tracking of fecal pollution in the subtropical coastal seawater of Hong Kong[J]. Water Research, 2010, 44(20): 6164-6174.
- [27] Fremaux B, Gritzfeld J, Boa T, et al. Evaluation of host-specific *Bacteroidales* 16S rRNA gene markers as a complementary tool for detecting fecal pollution in a prairie watershed[J]. Water Research, 2009, 43: 4838-4849.
- [28] Sungwoo Bae, Stefan Wuertz. Rapid decay of host-specific fecal *Bacteroidales* cells in seawater as measured by quantitative PCR with propidium monoazide[J]. Water Research, 2009, 43: 4850-4859.
- [29] Samir M. Elmir, Tomoyuki Shibata. Quantitative evaluation of enterococci and *Bacteroidales* released by adults and toddlers in marine water[J]. Water Research, 2009, 43: 4610-4616.
- [30] Sarah S Silkie, Kara L Nelson. Concentrations of host-specific and generic fecal markers measured by quantitative PCR in raw sewage and fresh animal feces[J]. Water Research, 2009, 43: 4860-4871.
- [31] 张薇薇, 杨晶艳, 王崑, 等. 拟杆菌属实时荧光定量 PCR 的建立[J]. 现代预防医学, 2010, 37(17): 3310-3312.
- [32] Aaron M. Saunders Detection and persistence of fecal *Bacteroidales* as water quality indicators in unchlorinated drinking water[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2009, 32: 362-370.
- [33] U. S. Environmental Protection Agency(US EPA), Report of the Experts Scientific Workshop on Critical Research Needs for the Development of New or Revised Recreational Water Quality Criteria[R/OL]. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/recreation> Washington, DC. EPA 823-R-07-006. 2007.
- [34] Boehm A B, Ashbolt N J, Colford J M, et al. A sea change ahead for recreational water quality criteria[J]. Journal of Water and Health, 2009, 7(1): 9-20.
- [35] WERF(Water Environment Research Foundation). Report on the Expert Scientific Workshop on Critical Research and Science Needs for the Development of Recreational Water Quality Criteria for Inland Waters[R]. Alexandria, VA: Water Environment Research Foundation, 2009.

## Review and Current Perspective on Using *Bacteroides* as A Fecal Source Indicator in Polluted Waterbodies

MA Xiao-xue<sup>1</sup>, YANG Yang<sup>1</sup>, Randy A. Dehlgren<sup>1,2</sup>, SHANG Xu<sup>1</sup>, ZHANG Ming-hua<sup>1,2</sup>

(1. Water Science and Environmental Ecology Institute of Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang 325035; 2. Davies Soil, Air and Water Department of University of California, Davis, California 95616, USA)

**Abstract:** It is well documented that fecal contamination in waterbodies is a major threat to water environmental safety. There are many limitations and difficulties to use traditional fecal indicator organisms for monitoring fecal contamination to accurately track the source of the fecal contamination in water. *Bacteroides* is an increasingly used method to determine the fecal contamination in waterbodies, for the advantage of their numerical superiority in human and animal intestinal microbes and the superior role of fecal source indicator. This paper introduced the facilities of *Bacteroides* used as indicator organism in the fecal pollution tracing, the methods of *Bacteroides* detection and its application in tracing fecal contamination were all present.

**Key words:** pathogens; indicator bacteria; *Bacteroides*