

长江流域隐孢子虫和贾第鞭毛虫的污染调查分析

刘明洋^{1, 2} 安伟² 肖淑敏^{1, 3} 张艳芬² 杨敏²¹

(1. 天津城建大学 环境与市政工程学院, 天津 300384;

2. 中国科学院 生态环境研究中心, 北京 100085;

3. 天津市水质科学与技术重点实验室, 天津 300384)

【摘要】: 为调查长江流域水中隐孢子虫和贾第鞭毛虫污染现状, 选取长江流域沿线 7 个省市的 17 个采样点, 分为丰水期(7 月)和枯水期(11 月)两次采集长江水样 34 份。水样经过沉淀浓缩、密度梯度分离纯化和荧光染色后, 在显微镜下检测和计数隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫包囊。结果发现: 卵囊或包囊总检出率为 61.76%, 其中丰水期和枯水期样品(各 17 份)卵囊或包囊检出率分别为 58.52%和 64.71%。隐孢子虫检出率最低的省份为四川省的 12.5%;最高的为湖北省和安徽省, 均为 75%。并且可以看出湖北省的隐孢子虫和贾第鞭毛虫检出率较高。长江流域各地区均受到隐孢子虫和贾第鞭毛虫不同程度的污染, 存在一定的用水安全隐患, 特别是作为饮用水源时, 要加强水处理去除效率的监测, 确保居民饮水安全。

【关键词】: 隐孢子虫 贾第鞭毛虫 水污染 长江

【中图分类号】: X522 **【文献标识码】:** A **【文章编号】:** 1004-8227(2021)12-2866-07

长江流域覆盖我国 11 个省市, 流域面积约占国土面积的 18.9%, 约占全国水资源总量的 35%, 支撑着 4.6 亿人口的生活及工业用水, 经济总量占全国的 GDP 的 54%^[1]。该流域是我国水资源配置的战略水源地, 每年供水量超过两千亿立方米, 支撑流域社会供水安全^[2], 还通过南水北调覆盖华北、苏北等广大地区。另一方面, 一旦水质受到污染, 将可能会影响数亿人群。水介传播的病原微生物是世界范围内每年造成 160 万人死亡的 40 亿腹泻病例的主要原因之一^[3]。

隐孢子虫和贾第鞭毛虫(以下简称“两虫”)是水传播寄生虫病中最常见的病原微生物^[4], 主要寄生在动物和人体肠道系统中, 引起以腹泻为主要临床症状的人畜共患性原虫病, 其中隐孢子虫是引起儿童腹泻和死亡的重要原因^[5]。感染“两虫”的人或动物随粪便排出卵囊或包囊, 经生活污水、畜禽养殖废水或粪便施肥后雨水冲刷等途径进入水体。因此, “两虫”感染可通过直接接触粪便而发生^[6], 但因其具有高耐氯性更主要是通过水传播途径发生。许多国家和地区忽视了“两虫”的存在, 但是由于其发病范围广, 而且没有特异的治疗方法, 其流行状况及对社会的危害是无法忽视的^[7]。流行病学调查研究表明, 在发达国家隐孢子虫平均感染率为 5%, 而在与发展中国家则高达 10%^[8]。在我国, 隐孢子虫感染率为 1.6%~13.5%, 贾第鞭毛虫为 1.05%~14.83%;不同区域感染率有所差异: 隐孢子虫感染率较高的地区主要为华东及华南地区, 且东部沿海感染比例高于内地; 贾第鞭毛虫则在华东、西北、西南地区均有检出, 但以西北地区较多^[9]。近 30 年来, 世界范围内发生了数百次以水为传播媒介由“两虫”引起的

作者简介: 刘明洋(1994~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为水资源保障与水污染控制。E-mail:781922960@qq.com;安伟 E-mail:anwei@rcees.ac.cn;肖淑敏 xiaoshumin@tcu.edu.cn

基金项目: 水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07502-001, 2017ZX07201-005);天津市技术创新引导专项(21YDTPJC00770)

疾病爆发, 其中 1993 年美国威斯康星州因饮用水被隐孢子虫污染, 引发了 40.3 万人集体感染, 至少 70 人死亡的饮用水安全事件^[10]。我国经饮用水途径每年感染的隐孢子虫腹泻发病率为 2701 例/10000 免疫缺陷人群、148 例/10000 免疫正常人群和 149 例/10000 整体人群, 导致的疾病负担为每人每年 8.31×10^{-6} 伤残调整生命年 (DALYs)^[11]。在考虑 HIV 的协同促进作用下, 我国饮用水途径贾第鞭毛虫或隐孢子虫的共感染率增加 7.11 倍, 累计风险估计达到 38.723×10^{-6} DALYs^[12], 超过了世界卫生组织推荐风险阈值 (10^{-6} DALYs)。

目前, 长流域针对“两虫”的调查研究数据相对缺乏, 只有部分研究对水源来自长江流域的城市(如上海^[13]、江苏^[14]、四川^[15]等)进行了检测, 且研究多集中在单一城市, 单一断面上, 缺乏对整个流域的系统调查。本研究首次对长江流域整个主河道断面(17 个断面)进行研究, 分为丰水期(7 月份)和枯水期(11 月份), 采集水样 34 份, 进行“两虫”检测分析, 以期为我国流域污染控制及生活饮用水安全保障提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样设置

2019 年 7 月份和 11 月份在四川、重庆、湖南、湖北、安徽、江苏、上海七个城市的 17 个采样点采集水样 34 份。采样河流与具体地点如图 1 所示: 17 个点代表 17 个位置。

1.2 水样采集

使用洁净的塑料容器从河流中间水面以下大约 30cm 处收集水, 每个样品采集 10L。经快递方式于低温运至实验室, 在 72h 内进一步处理。

1.3 检测方法

本研究采用的“两虫”的方法参照《城镇供水水质标准检验方法》(CJT141-2018)^[16]进行, 主要步骤如下:

(1) 沉淀浓缩

将水样转入平底桶中, 放在磁力搅拌器上, 加入氯化钙溶液和碳酸氢铵溶液, 然后用氢氧化钠溶液调节 pH 值至 10 ± 0.02 , 静置 12~16h; 去掉上清液, 加入氨基磺酸溶液溶解剩余沉淀物, 转移至 500mL 离心杯中。在离心 $2000 \times g$ (重力加速度)、 20°C 离心 10min; 离心结束后吸去上清液, 沉淀加入适量磷酸盐 (PBS)-吐温 (0.01% Tween80) 缓冲液 (PBST), 摇匀后平均分配至 2 个 50mL 锥形离心管内, 再用 PBST 缓冲液分 3 次清洗离心杯, 均匀转移至上述 50mL 锥形离心管中, 用纯水稀释至 40mL。 $2000 \times g$ 、 20°C 离心 10min 后去上清液。对上述操作重复一次。保留沉淀物。

(2) 分离纯化

向上述剩余的沉淀物中加入 PBST 缓冲液, 混合均匀分至 15mL 离心管中。用滴管从离心管底部缓慢加入 Percoll-蔗糖分离液 (密度 1.13g/mL), 在 $1050 \times g$ 、 20°C 条件下离心 10min, 用吸管吸取富含“两虫”包囊或卵囊的混合液于新的 15mL 离心管中。重复上述操作, 将上述混合液合并。此外, 对于那些分离纯化之后不宜染色的样品 (分离纯化后样品浑浊的) 参考陈智敏等^[17]方法向收集后富含“两虫”的 15mL 离心管中加入同等体积的乙酸乙酯, 充分混合均匀, $2000 \times g$ 、 20°C 条件下离心 10min, 然后弃上清乙酸乙酯至水层。所得沉淀用 PBS 缓冲液混合均匀再次离心, 弃上清后进行染色。

(3) 荧光染色

用免疫组化笔在醋酸纤维膜(孔径 $3\ \mu\text{m}$, 直径 25mm)的外周画圆圈。将分离纯化后的样品过滤至上述滤膜圆圈内;滴加 $50\ \mu\text{L}$ 抗隐孢子虫/贾第鞭毛虫单克隆荧光抗体,在潮湿暗盒里室温静置 30min ;滴加 $100\ \mu\text{L}$ 4,6-二脒基-2-苯吡啶盐酸(DAPI),静置 10min 。染色后的滤膜用脱水剂(无水乙醇+甘油+纯水)脱水后转至载玻片上,再在滤膜上滴加一滴甘油,盖上盖玻片固定后用于镜检。

(4) 镜检

染色后 48h 内使用荧光显微镜在 FITC 模式下对滤膜上整圆圈内扫描查找“两虫”,经 DAPI 模式下对隐孢子虫卵囊和贾第鞭毛虫包囊进行确认并计数。

1.4 质量控制

为了保证每次实验数据的准确性,确保其质量,在每批实验检测的整个过程中实施质量控制是必要的,其主要是通过通过对每次实验设定其相应的空白对照(阴性对照)和阳性对照来实现的。空白对照是用来判断实验操作过程是否引进污染。阳性对照采用加标的方法来完成,以此来判断实验操作过程是否正确。即样品前处理使用纯水当作空白对照;事先在 10L 的纯水样中加入 100 个隐孢子虫卵囊和 100 个贾第鞭毛虫包囊作为阳性对照,按上述实验操作步骤同步进行。

2 结果

2.1 检测方法质量控制

以纯水作为空白对照的试验均未检出卵囊和包囊;加标阳性对照水样中卵囊和包囊的回收率为 27% 和 23% ,符合 GB/T5750-2006《生活饮用水标准检验方法》要求的回收率范围($10\%\sim 100\%$)。

2.2 “两虫”阳性分布

如图 1 所示, 17 个采样点中只有 2 个采样点没有“两虫”,其余 15 个采样点均有检出,即为隐孢子虫阳性或贾第鞭毛虫阳性。



图 1 隐孢子虫和贾第鞭毛虫的检测分布情况

2.3 “两虫”检测结果

两次采集水样共 34 份(各 17 份),其中第 1 次水样共检测出隐孢子虫阳性 6 份,贾第鞭毛虫阳性 7 份,检出率分别为 35.29% 和 41.18%,隐孢子虫卵囊或贾第鞭毛虫包囊的阳性率为 58.82%。第 2 次水样共检测出隐孢子虫阳性 9 份,贾第鞭毛虫阳性 4 份,检出率分别为 52.94%和 23.53%,隐孢子虫卵囊或贾第鞭毛虫包囊阳性率达到了 64.71%。其中,隐孢子虫的浓度范围在 0~9 个/10L 中,贾第鞭毛虫的浓度范围在 0~3 个/10L。

2.4 不同地区“两虫”的污染情况

如表 1 所示,此次采样共涉及 7 个省市,隐孢子虫检出率最低的省份为四川省的 12.5%;最高的为湖北省和安徽省,均为 75%。贾第鞭毛虫检出率最低的为湖南省 0%;最高的是湖北省 75%。并且可以看出湖北省的隐孢子虫和贾第鞭毛虫检出率都较高。

2.5 “两虫”浓度与水质指标相关性分析

除“两虫”外,本研究还分析了水样浊度等水质理化指标,结果为浊度范围为 1.9~81.4NTU,氨氮浓度在 0.012~0.531mg/L, pH 值在 7.49~8.75 范围内,高锰酸盐浓度范围为 1.07~4.30mg/L。相关性分析没有发现“两虫”污染状况与上述检测的水质理化指标有相关性。

表 1 不同地区隐孢子虫和贾第鞭毛虫的污染情况

地区	采样数量(份)	检出数(检出率%)	
		隐孢子虫	贾第鞭毛虫
四川省	8	1(12.5)	2(25)
重庆市	8	4(50)	2(25)
湖南省	4	2(50)	0(0)
湖北省	6	3(75)	3(75)
安徽省	4	3(75)	2(50)
江苏省	2	1(50)	1(50)
上海市	2	1(50)	1(50)

3 讨论

本研究中,12/17(70.59%)的采样点检测结果显示为隐孢子虫阳性,10/17(58.82%)的采样点为贾第鞭毛虫阳性。隐孢子虫的浓度水平为 0~9 个卵囊/10L;贾第鞭毛虫的浓度水平为 0~3 个包囊/10L。这一结果与国内外已有的研究较为一致。Xiao 等^[15]对三峡水库中隐孢子虫和贾第鞭毛虫进行风险评价发现,三峡水库中卵囊与包囊的检出率分别为 86.4%和 65.2%,检出率均高于本研究。孟明群等^[13]发现上海市区 15 座水厂原水中均有隐孢子虫卵囊或贾第鞭毛虫包囊检出,卵囊平均浓度为 0.8 个/10L、包囊平均浓度为 3.5 个/10L。王惠婷等^[18]对南方某江断面水样的“两虫”调查显示,所有采样点均有“两虫”检出,其中包囊浓度范围在 5~125 个/10L,卵囊范围在 0~30 个/10L。曹胜魁^[19]等对广西宾阳县和灵山县水源隐孢子虫和蓝氏贾第鞭毛虫污染调查发

现, 10个进水厂中有4个检出隐孢子虫阳性, 检出率为40%, 低于本研究最高检出率。Xiao等^[20]在介水传播疾病高发季节对天津湖泊采集52个样本分析“两虫”, 结果显示隐孢子虫与贾第鞭毛虫阳性率分别为82.7%(43)和98.1%(51), 浓度为3.65与12.58个包囊/10L, 高于本研究。魏彤竹等^[21]对采自辽宁某地区饮用水源水水样进行检测发现, 包囊检出率为60%, 卵囊检出率为40%, 贾第鞭毛虫检出率略高于本研究, 隐孢子虫检出率低于本研究。国外方面, Rose等^[22]调查发现美国17个州的257个水样中隐孢子虫卵囊检出率为55%, 平均浓度为43个卵囊/100L。日本某饮用水厂原水中隐孢子虫卵囊检出率为100%, 贾第鞭毛虫包囊检出率为92.3%^[23]。巴西、荷兰的水源水与河水检测发现隐孢子虫卵囊的检出浓度范围为0.19~510个/L, 贾第鞭毛虫的检出浓度范围为2~210个包囊/L^[24,25]。Prystajecy等^[26]在2014年对哥伦比亚的两条河流检测, 发现63%的地表水检出隐孢子虫, 浓度在0~20600个卵囊/100L; 86%的地表水检出贾第鞭毛虫, 浓度在0~3800个包囊/100L。

从不同地区水样“两虫”的污染情况来看, 本研究中湖南省与四川省“两虫”检出率均较低, 而湖北省“两虫”的污染较为严重, 检出率达到了75%, 安徽省隐孢子虫检出率较高为75%。刘莉莉等^[27]调查结果为四川省部分地区水厂原水“两虫”检出率均为56.25%, 而成都饮用水厂原水均有“两虫”检出^[28], 均高于本研究对四川的调查。此外, 在深圳市集中供水中“两虫”的污染现状分析中, 饮用水并未受到卵囊和包囊的污染^[29]; 上海市饮用水和环境水中隐孢子虫和贾第鞭毛虫的污染分析中卵囊与包囊的检出率均较低, 分别为17.1%和20%^[30]。上述调查研究表明, 我国水源水中存在“两虫”污染较为普遍, 并且隐孢子虫污染程度高于贾第鞭毛虫, 但不同区域水中“两虫”污染状况有所不同。

“两虫”污染来源于被感染的人或动物粪便, 可通过城镇生活污水、畜禽养殖废水和粪便施肥等途径进入环境水体。因此, 区域环境水体中“两虫”的污染水平受区域感染患者人数、畜禽养殖量及感染率、生活污水处理水平、粪便处理方式和河流数量及其流经境内距离等多重因素的影响。与人群流行病学的隐孢子虫在东部沿海感染比例高于内地^[9]不同, 本研究中水样“两虫”检出率在长江中流的湖北省高于下游的江苏省、上海市(东部沿海), 分析原因可能与采取样本量较少及采样点位置有关, 但更主要可能与区域畜禽养殖规模、粪便处理方式和水平有关, 因为城镇粪便随生活污水处理时大部分“两虫”被去除。事实上, 按照《中国畜牧兽医年鉴》统计^[31], 湖北畜禽养殖规模(约39311万头)明显高于江苏(约32641万头)、上海(约1440万头)等沿海地区, 但其畜禽养殖废水处理和粪便管理水平落后于后者。此外, 农村地区粪便于于施肥还田, 经雨水冲刷也可进入地表水体, 进而影响到环境水体“两虫”污染程度。

由于水体中“两虫”检测成本较高, 学者试图探索水质参数与“两虫”之间的关系, 以寻找有效替代的指标来间接反映水体中“两虫”的存在水平。Xiao等^[15]在三峡水库调查发现“两虫”浓度水平与水质常规理化没有相关性。而另有研究发现天津湖泊水^[20]和台湾河水^[32]中“两虫”浓度水平与浊度有一定的相关性。此外, Mons等^[33]对巴黎河水中“两虫”监测过程中亦没有发现“两虫”与理化指标及大肠杆菌、总大肠菌有相关性, 但发现贾第鞭毛虫浓度和肠球菌有相关性。在本研究中, “两虫”与检测的理化指标没有相关性, 与上述Xiao等^[15]在三峡水库的结果一致。

4 结论

(1) “两虫”在我国长江流域整个断面的总体检出率为61.76%, 其中, 在丰水期检出率为58.82%, 枯水期检出率为64.71%, 隐孢子虫卵囊浓度范围在0~9个/10L, 贾第鞭毛虫包囊浓度范围在0~3个/10L。

(2) 研究的7个省份中, 四川省“两虫”检出率较低(12.5%), 湖北省检出率较高(75%), 其次是安徽、上海、江苏、重庆和湖南。其中湖南省贾第鞭毛虫包囊检出率最低。

(3) 本次调查研究结果显示我国长江流域不同地区受到的“两虫”污染程度不同, 其总体污染程度较高。所以各个地区要对水源水中的“两虫”进行加强管理, 特别是出水厂, 要加强水处理中间环节的工艺流程, 严格把控, 防止饮用水受到“两虫”污染。

参考文献:

- [1] 蒋玉芳, 石自堂, 韩超. 长江流域水污染及其防治[J]. 科学, 2008, 60(3):38-40, 4.
- [2] 蔡庆华. 长江大保护与流域生态学 [J]. 人民长江, 2020, 51(1):70-74.
- [3] World Health Organization (WHO). Risk assessment of Cryptosporidium in drinking water. 2009[EB/OL]. <http://www.who.int>.
- [4] EFSTRATION A, ONGERTH J E, KARANIS P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks: An update 2011-2016 [J]. Water Research, 2017, 114:14-22.
- [5] LIU J, JAMES A P-M, JUMA J, et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to identify causes of diarrhoea in children: A reanalysis of the GEMS case-control study [J]. The Lancet, 2016, 388(10051):1291-1301.
- [6] ZAMBRANO L D, LEVY K, MENEZES N P, et al. Human diarrhea infections associated with domestic animal husbandry: A systematic review and meta-analysis [J]. Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2014, 108(6):313-325.
- [7] 魏小红, 陈守义. 贾第鞭毛虫和隐孢子虫的流行病学研究进展 [J]. 热带医学杂志, 2014, 14(2):265-268.
- [8] HOSFTRA N, BOUWMAN A F, BEUSEN A H W, et al. Exploring global Cryptosporidium emissions to surface water[J]. Sci Total Environ, 2013, 442:10-19.
- [9] 韩明毅, 安伟, 马金锋, 等. 人畜共患贾第鞭毛虫和隐孢子虫国内研究进展 [J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(5):614-622.
- [10] VERGARA-CASTIBLANCO C A, FREIRE-SANTOS F, OTEIZA-LÓPEZ A M, et al. Viability and infectivity of two Cryptosporidium parvum bovine isolates from different geographical location [J]. Veterinary Parasitology, 2000, 89(4):261-267.
- [11] XIAO S M, AN W, CHEN Z M, et al. The burden of drinking water-associated cryptosporidiosis in China: The large contribution of the immunodeficient population identified by quantitative microbial risk assessment [J]. Water Reserch, 2012, 46(13):4272-4280.
- [12] HAN M Y, XIAO S M, AN W, et al. Co-infection risk assessment of Giardia and Cryptosporidium with HIV considering synergistic effects and age sensitivity using disability-adjusted life years [J]. Water Research, 2020, 175:115698.
- [13] 孟明群, 蒋增辉, 陈国光. 上海市区原水及自来水中两虫分布调查[J]. 中国给水排水, 2005, 21(12):32-34.
- [14] 陈小岳, 吕旭峰, 王国强, 等. 常州市城市饮用水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫动态监测分析[J]. 职业与健康, 2015, 31(20):2825-2827.

-
- [15]XIAO G S, QIU Z Y, QI J S, et al. Occurrence and potential health risk of Cryptosporidium and Giardia in the Three Gorges Reservoir, China [J]. Water Research, 2013, 47 (7) :2431-2445.
- [16]CJ/T 141-2018, 城镇供水水质标准检验方法 [S].
- [17]陈智敏, 张昱, 杨敏, 等. 密度梯度分离/免疫荧光技术检测再生水中隐孢子虫和贾第鞭毛虫 [J]. 环境工程学报, 2011, 5 (5) :982-986.
- [18]王惠婷, 陈丽芬, 郑锋, 等. 某市出厂水的贾第鞭毛虫和隐孢子虫现状调查 [J]. 广州化工, 2008, 36 (1) :51-52, 60.
- [19]曹胜魁, 姜岩岩, 袁忠英, 等. 广西宾阳县和灵山县水源隐孢子虫和蓝氏贾第鞭毛虫污染调查 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2018, 36 (6) :597-601.
- [20]XIAO S M, ZHANG Y, ZHAO X Y, et al. Presence and molecular characterization of Cryptosporidium and Giardia in recreational lake water in Tianjin, China: A preliminary study [J]. Scientific Reports, 2018, 8 (1) :554-560.
- [21]魏彤竹, 于淼, 张眉眉, 等. 辽宁北部某地区生活饮用水源水污染贾第鞭毛虫和隐孢子虫情况调查 [J]. 中国卫生检查杂志, 2019, 29 (2) :239-241.
- [22]ROSE J B, GERBA C P, JAKUBOWSKI W. Survey of potable water supplies for Cryptosporidium and Giardia [J]. Environmental Science & Technology, 1991, 25 (8) :1393-1400.
- [23]HASHIMOTO A, KUNIKANE S. Prevalence of Cryptosporidium oocysts and Giardia cysts in the drinking water supply in Japan [J]. Water Research, 2002, 36 (3) :519-526.
- [24]BASTOS R, HELLER L, VIEIRA M, et al. Giardia sp. cysts and Cryptosporidium spp. oocysts dynamics in southeast Brazil: Occurrence in surface water and removal in water treatment processes [J]. Water Science and Technology: Water Supply, 2004, 4 (2) :15-22.
- [25]MEDEMA G J, SCHIJVEN J F. Modelling the sewage discharge and dispersion of Cryptosporidium and Giardia in surface water [J]. Water Research, 2001, 35 (18) :4307-4316.
- [26]PRYSTAJECKY N, HUCK P M, SCHREIER H, et al. Assessment of Giardia and Cryptosporidium spp. as a microbial source tracking tool for surface water: Application in a mixed-use watershed [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80 (8) :2328-2336.
- [27]刘莉莉, 俞秋华, 黄庆华, 等. 2016-2017 年四川省部分水厂水源水、出厂水中蓝氏贾第鞭毛虫和隐孢子虫污染情况 [J]. 预防医学情报杂志, 2019, 35 (3) :257-260.
- [28]蔡炯, 叶劲, 杜慧兰, 等. 成都市区生活饮用水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫污染状况的预调查 [J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17 (12) :2165-2167.
- [29]张志诚, 余淑苑, 张仁利, 等. 2008 年深圳市集中式供水中贾第鞭毛虫和隐孢子虫污染现状 [J]. 环境与健康杂志,

2009, 26(1):50-51.

[30]张小萍, 何艳燕, 朱倩, 等. 上海市饮用水和环境水中隐孢子虫和蓝氏贾第鞭毛虫污染状况调查 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(6):435-438.

[31]中国畜牧兽医年鉴编辑委员会. 中国畜牧兽医年鉴 2018 [M]. 中国农业出版社, 2018. 12.

[32]HSU B M, HUANG C, JIANG G Y, et al. The prevalence of Giardia and Cryptosporidium in Taiwan water supplies [J]. J. Toxicol Environ Health A, 1999, 57(3):149-160.

[33]MONS C, DUMETRE A, GOSSELIN S, et al. Monitoring of Cryptosporidium and Giardia River contamination in Paris area [J]. Water Res, 2009, 43(1):211-217.