

高将, 张宝军, 孙悦, 等. 住宅厨房给水管网末梢微生物多样性分析[J]. 净水技术, 2023, 42(12):63-71.

GAO J, ZHANG B J, SUN Y, et al. Analysis of microbial diversity at the end of water supply pipelines network in residential kitchens[J]. Water Purification Technology, 2023, 42(12):63-71.

住宅厨房给水管网末梢微生物多样性分析

高将^{1,2}, 张宝军^{2,3,*}, 孙悦^{1,3}, 袁涛^{1,3}

(1. 江苏建筑职业技术学院建筑智能学院, 江苏徐州 221116; 2. 中国矿业大学环境与测绘学院, 江苏徐州 221116; 3. 徐州市水处理工程技术研究中心, 江苏徐州 221116)

摘要 采集住宅厨房给水管网龙头、枝状管网及净水器 3 个部位水样, 采用蛋白酶 K 裂解法进行基因组 DNA 抽提, 基于宏基因组学技术分析其微生物群落结构、代谢功能、抗生素抗性基因(ARGs) 及毒力因子, 探究给水支管末梢饮水安全风险。结果表明, 住宅厨房给水管网末梢不同部位可能存在多种微生物, 并且具备不同的特定功能, 碳水化合物代谢是住宅厨房给水管网末梢样品中 KEGG 注释到数量最多的通路; *adeF* 基因是最佳抗生素耐药性本体(ARO) 抗性基因; 进攻型毒力因子是住宅厨房给水管网末梢细菌毒力的主要类型; 给水支管末梢附件更便于微生物富集, 同时也存在较高的 ARGs 污染风险。研究可为住宅厨房给水管网末梢微生物多样性研究提供指导依据, 为生活饮用水生物安全保障提供新思路。

关键词 给水管网 宏基因组学 微生物群落结构 抗生素抗性基因(ARGs) 毒力因子

中图分类号: TU991 文献标识码: A 文章编号: 1009-0177(2023)12-0063-09

DOI: 10.15890/j.cnki.jsjs.2023.12.008

Analysis of Microbial Diversity at the End of Water Supply Pipelines Network in Residential Kitchens

GAO Jiang^{1,2}, ZHANG Baojun^{2,3,*}, SUN Yue^{1,3}, YUAN Tao^{1,3}

(1. Institute of Building Intelligence, Jiangsu Vocational Institute of Architectural Technology, Xuzhou 221116, China;

2. School of Environment and Spatial Informatics, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221116, China;

3. Xuzhou Water Treatment Engineering Technology Research Center, Xuzhou 221116, China)

Abstract Collecting water samples from the tap, branch pipelines network and water filter of residential kitchen water supply pipelines network, extracting genomic DNA by proteinase K cleavage method, and analyzing the microbial community structure, metabolic function, antibiotic resistance genes (ARGs) and virulence factors based on metagenomics, the safety risk of drinking water at the end of water supply branch pipelines were explored. The results indicated that there would be multiple microorganisms presented in different parts of the residential kitchen water supply network and had different specific functions, carbohydrate metabolism was the pathway with the highest number of KEGG annotations in the residential kitchen water supply network endings samples, the *adeF* gene was the optimal antibiotic resistance ontology (ARO) resistance gene, and the aggressive virulence factor was the main type of bacterial virulence, the end attachment of water supply branch pipelines was more convenient for microbial enrichment and had a higher risk of antibiotic resistance genetic pollution. This study can provide guidance for the study of microbial diversity at the ends of residential kitchen water supply networks, and provide new ideas for ensuring the biological safety of drinking water.

Keywords water supply pipelines network metagenomics microbial community structure antibiotic resistance genes (ARGs) virulence factor

[收稿日期] 2023-02-19

[基金项目] 徐州市重点研发计划项目(KC19221); 徐州市应用基础研究计划项目(KC19049); 徐州市基础研究计划青年科技人才项目(KC23036)

[作者简介] 高将(1985—), 男, 副教授, 注册设备公用工程师, 研究方向为水污染控制技术, E-mail: 309281357@qq.com。

[通信作者] 张宝军(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为农村分散式污水处理技术, E-mail: 12028203@qq.com。

饮水安全是人类健康和生命安全的基本保障^[1]。建筑物内部给水横支管称为给水管网末梢,它通过角阀、编织软管与用水附件直接相连。在不用水的状态下,给水管网末梢中水是不流动的,往往在管网内部及管道附件、连接管部位形成死水。研究^[2]表明,有 1/3 的出厂水和末梢水消毒剂余量不达标,在给水管网末梢存在微生物富集的风险,也有报道^[2]称部分农村地区生活饮水存在一定的安全隐患。

给水管网末梢水质一直是饮用水安全研究的热点,但多集中于管网内部新污染物^[3-5]、生物膜^[6-8]以及消毒副产物^[9-11]等方面,对阀门、龙头等给水附件以及与之相连的编织软管内部微生物多样性研究较少。近年来随着分子生物学技术的发展,宏基因组学(metagenomics)基因测序技术逐渐被应用于饮用水微生态的研究^[12-13],借助于该技术,国内外学者在供水系统微生物多样性测序方面进行了广泛研究^[14-16]。本研究基于宏基因组学测序技术,对房龄超过 10 年的厨房给水管网末梢水进行采样测定,获取建筑给水管网末梢中的菌落组成、KEGG 功能、抗生素抗性基因(ARGs)、毒力因子,以期给给水管网末梢水质安全及风险评估提供基础和参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

样本采集于徐州市泉山区住宅厨房给水管网末梢,选取房龄 10 年以上住宅小区 3 个,每个小区按照与加压泵站距离的不同选择 2~3 栋楼房,每一栋楼房再按照给水加压分区不同选择低区和高区两户进行采样。泉山区位于徐州市西南部,分主城区和新城区两个区域,辖区内住宅类型多样,老旧小区和新建住宅均有分布,可以很好地代表整个城市住宅情况。

分别从枝状管网(H_ZW)、厨房龙头(H_LT)以及净水器(H_PP)提取水样各 10 L,置于无菌聚乙烯塑料桶中。在龙头和净水器水样提取过程中,同时将龙头、编织软管、角阀、净水器专用连接管以及净水器进行拆解,以无菌方式进行表面清理,收集混合清洗后的废液和原水样。选取孔径 0.2 μm 已灭菌的滤膜,将滤膜折叠放于抽滤瓶中,采用循环水真空泵进行抽滤,直至滤膜上可见明显覆盖物,滤膜样品置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。本次采集泉山区 3 个小区

16 户,共 48 个样本。

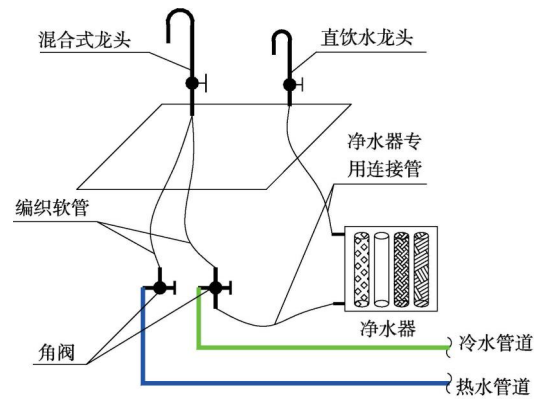


图 1 采样点

Fig. 1 Sampling Points

1.2 DNA 提取及建库

将滤膜置于灭过菌的管中,加入磷酸缓冲盐溶液(PBS),将膜上的富集物洗脱,离心富集至 1 mL 的离心管,加入蛋白酶 K(10 mg/mL),50 μL 的十二烷基磺酸钠(SDS,20%),颠倒混匀,55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 2 h。加入 1 mL 的混合溶液酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)至 2 mL,充分混匀至悬浊液状(整管呈乳白色),12 000 r/min 转速下离心 10 min,去除蛋白。上清液转移至新的离心管,采用异丙醇沉淀的方法收集 DNA,70%乙醇漂洗两次去除杂质,最终 DNA 溶解在 50 μL 的 TE 缓冲液中。采用 Qubit[®] 3.0 荧光光谱仪(Thermo Fisher Scientific, MA, USA)检测 DNA 的浓度,1.2%琼脂凝胶电泳检测 DNA 样品的质量和完整性,电压为 5 V,时间为 30 min。

利用超声波仪 Covaris M220 (Covaris, Woburn, MA, USA)将各基因组 DNA 样本随机打断成 300 bp 左右的片段,随后按照操作说明书,利用 NEBNext[®] Ultra[™] DNA Library Prep Kit for Illumina[®] (NEB, USA)进行文库构建,采用 Agencourt AMPure XP (Beckman, USA)进行磁珠纯化,并用 GenNext[™] NGS Library Quantification Kit (Toyobo, Japan)进行定量,之后采用 Illumina Novaseq 6000 PE150,于微基生物科技(上海)有限公司完成宏基因组测序。

1.3 序列质控与组装

使用 FASTP 软件(版本 0.22.0)进行质控过滤,去除质量较低长度较小的 reads,同时去掉接头序列,对原始序列进行优化统计,采用 MEGAHIT 软件对序列进行组装。

1.4 基因预测及非冗余基因集构建

采用 METAProdigal 进行基因预测, 预测所得基因序列, 用 CD-HIT 软件进行聚类 [参数为 95% 一致度 (identity)、90% 覆盖度 (coverage)], 每个类取最长的基因作为代表序列, 构建非冗余基因集。采用 BWA 软件将质控后的 reads 比对到非冗余基因集, 计算基因的丰度 RPKM (每百万 reads 中来自于某基因每千碱基长度的 reads 数)。

1.5 基因注释

在上述分析的基础上, 进行一系列群落结构和功能注释等的可视化。利用 R 语言 (版本 3.6.1) 进行柱状图、Heatmap 展示。对厨房给水管网末梢微生物的物种组成、KEGG 功能、ARGs、细菌毒力因子进行注释。

使用 DIAMOND 软件^[17] 将基因集与 NCBI 的 NR 数据库进行比对^[18] (BLASTP 比对参数设置期望值 e-value 为 1×10^{-5}), 选取相似性最高的序列信息作为该序列的物种信息, 在界、门、纲、目、科、属、种分类学水平上进行物种注释和相对丰度统计 (将每个样本注释到的开放阅读框架 (ORF) 进行汇总, 并均一化到 100%)。根据住宅厨房给水管网末梢

微生物可能富集的位置不同, 对 H_ZW、H_LT 以及 H_PP 3 个部位的测序结果进行汇总统计。列出不同分类层级 (门、纲、目、科、属、种) 相对丰度前 25 的物种 (其余的合并为 others), 绘制出各对应的相对丰度柱形图。

使用 DIAMOND 软件 BLASTP 命令, 将基因集与 KEGG 数据库、VFDB 数据库进行比对^[19] (BLAST 比对参数设置期望值 e-value 为 1×10^{-5}), 采用 RGI (resistance gene identifier) 软件来对未知序列进行抗性基因分析 (使用 perfect+strict 参数), 获得基因对应的抗生素抗性功能注释信息, 将比对上的 ORF 进行功能信息注释和相对基因丰度统计 (将每个样本注释到的 ORF 进行汇总, 并均一化到 100%)。

2 结果与分析

2.1 物种组成

基于 48 份标本, 宏基因组测序数据结果, 共注释 4 个界、143 个门、192 个纲、510 个目、1 092 个科、3 551 个属、15 909 个种。以门 (phylum) 和属 (genus) 两个分类学水平上统计物种进行展示, 如图 2~ 图 3 所示。

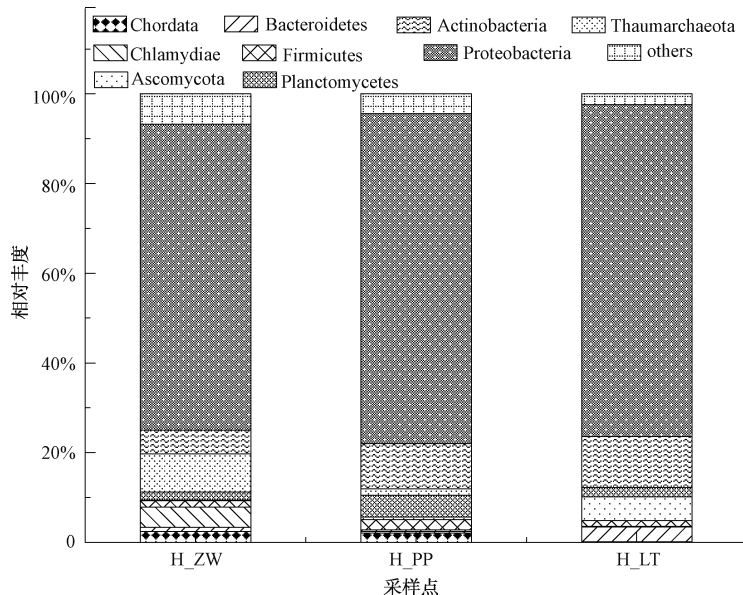


图 2 门水平相对丰度

Fig. 2 Horizontal Relative Abundance at Phylum Level

如图 2 所示, 在门分类学水平上, H_ZW、H_PP、H_LT 样品分别检测出 142、120、111 个门。优势菌门为: 变形菌门 (Proteobacteria) (71.92%, 68.20% ~ 74.01%)、放线菌门 (Actinobacteria)

(8.94%, 5.32% ~ 11.36%)、奇古菌门 (Thaumarchaeota) (3.30%, 0.03% ~ 8.51%), 浮霉菌门 (Planctomycetes) (2.90%, 1.82% ~ 4.87%), 其相对丰度均大于 2.50%, 平均相对丰度占总序列的

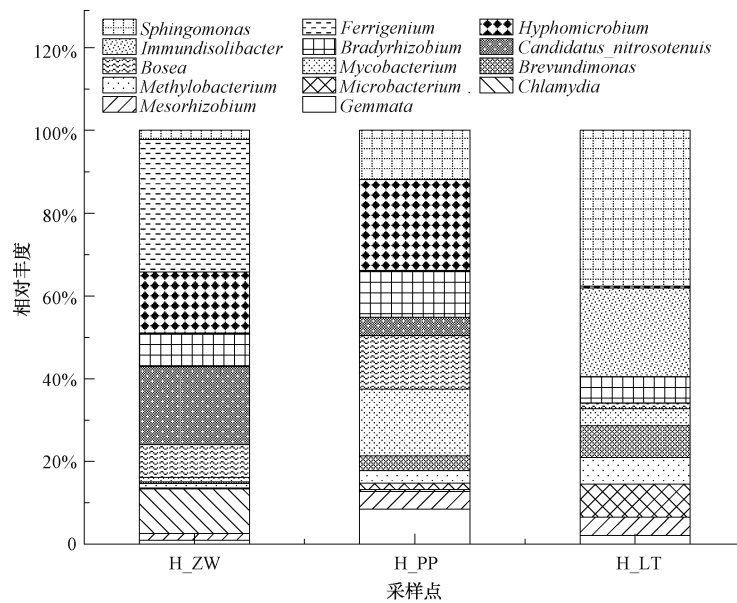


图 3 属水平相对丰度

Fig. 3 Horizontal Relative Abundance at Genus Level

87.07% (83.85% ~ 89.94%)。子囊菌门 (Ascomycota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、脊索动物门 (Chordata) 平均相对丰度均大于 1.00%。

变形菌门在 H_ZW、H_PP、H_LT 样品中均有较大占比,该结果与 Zhou 等^[20]的研究结果相符,分别为 68.20%、73.55% 和 74.01%,奇古菌门在枝状管网中的含量要明显高于其他两个样品,广古菌门 (Euryarchaeota) 及硅藻门 (Bacillariophyta) 在枝状管网样本中含量较高,在龙头及人造化学纤维 (PP 棉) 样本中含量较低。奇古菌门及节肢动物门 (Arthropoda) 在枝状管网和 PP 棉样本中含量较高,在龙头样本中含量较低甚至接近 0; 装甲菌门 (Armatimonadetes)、担子菌门 (Basidiomycota) 在龙头样本中含量较高,在枝状管网及 PP 棉样本中含量较低。

如图 3 所示,在属分类学水平上, H_ZW、H_PP、H_LT 样品分别检测出 3 381、3 061、2 972 个属。优势菌属为:鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*) (7.70%, 0.85% ~ 18.77%)、铁元素菌属 (*Ferrigenium*) (4.26%, 0.01% ~ 12.74%)、生丝微菌属 (*Hyphomicrobium*) (4.19%, 0.21% ~ 6.48%)、不溶杆菌属 (*Immundisolibacter*) (3.61%, 0.07% ~ 10.70%)、慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*) (3.22%, 3.18% ~ 3.27%),其相对丰度均大于 3.00%,平均

相对丰度占总序列的 (22.97%, 13.31% ~ 32.90%)。其次为暂定分类亚硝化菌属 (*Candidatus nitrosotenuis*)、博斯氏菌属 (*Bosea*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、单胞菌属 (*Brevundimonas*)、甲基杆菌属 (*Methylobacterium*)、微杆菌属 (*Microbacterium*)、衣原体属 (*Chlamydia*) 平均相对丰度均大于 1.50%,其他菌属的相对丰度合计为 58.13% (47.62% ~ 68.72%)。

铁元素菌属在 H_ZW 样品中占比最高 (12.74%),其含量也明显高于其他两个样品,这与市政或小区管网采用金属管材有一定关系,生丝微菌属在 H_PP 样品中占比最高 (6.48%),铁元素菌属在 H_PP 样品中几乎没有,鞘氨醇单胞菌在 H_LT 样品中占比最高 (18.77%),不溶杆菌属在 H_LT 样品中含量明显高于其他两个样品。在 H_PP 样品中检测到生丝微菌属具有最高占比,这说明净水器作为直饮水的最后屏障,在过滤颗粒物、胶体甚至离子方面具有一定的优势,但仍有聚集微生物的风险。

2.2 KEGG 功能注释

KEGG 功能基因注释信息结果如图 4 所示,所有样品中微生物在数据库中注释到的基因序列表现出了丰度上的差异性和功能上的多样性,但总体差异性不明显,3 组样品中注释到数量最多的通路是碳水化合物代谢 (12.47%, 12.30% ~ 12.80%),这和文献^[21]报道一致,其次是氨基酸代谢 (10.58%,

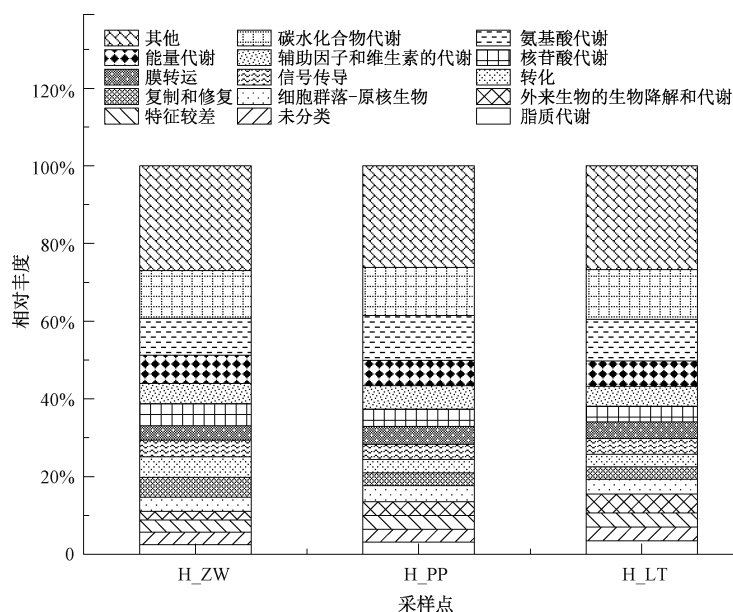


图4 KEGG 基因注释

Fig. 4 KEGG Gene Annotation

9.44% ~ 11.55%)、能量代谢 (6.80%, 6.47% ~ 7.35%)以及辅助因子和维生素的代谢 (5.43%, 5.10%~6.03%),4种注释基因占总质量的35.28% (34.24% ~ 36.47%)。磷酸转移酶 (phosphotransferase, MPH)在微生物介导碳水化合物的摄取、磷酸化以及调节细菌毒力与应激反应方面具有重要作用^[22],其在H_ZW中较其他两个样本有较高含量 (13.19%),这和枝状管网余氯存有量较龙头和净化器高有很大关系。

2.3 ARGs 注释

与CARD(the comprehensive antibiotic resistance database)数据库比对,注释结果如图5所示。根据最佳ARO抗性基因统计[图5(a)],*adeF*平均相对丰度最高 (15.71%, 3.66% ~ 28.48%),其次为*mphO* (4.42%, 0.03% ~ 13.06%)、*IMI-8* (3.48%, 0.02% ~ 9.62%)、*Sed-1* (3.24%, 0.05% ~ 8.65%)、*Bsub_mprF* (3.14%, 0.86% ~ 7.32%),平均相对丰度均超过3%,5种抗性基因平均相对丰度总和占总样本的超30%。H_ZW样品中平均相对丰度较高的基因是*mphO* (13.06%)、*adeF* (3.67%);H_PP样品中平均相对丰度较高的基因是*adeF* (14.97%)、*IMI-8* (9.62%);H_LT样品中*adeF* (28.48%)、*bcrC* (2.86%)两种基因平均相对丰度较高;说明3组样品中抗生素耐药类型主要为外源泵类,其次为大环内酯类。

由AMR基因家族抗性基因统计[图5(b)]可知,耐药结节化细胞分化家族(resistance-nodulation-cell division, RND)在所有样品中相对丰度均为最高,平均相对丰度 (23.72%, 13.57% ~ 37.73%),其他含量相对较高的抗性基因还有主要易化子超家族 (macrolide major facilitator superfamily, MFS) (6.30%, 3.57% ~ 8.01%)、MPH (4.78%, 0.39% ~ 13.19%)、OXA型β-内酰胺酶 (OXA beta-lactamase) (4.69%, 3.40% ~ 6.23%)、防御素抗性双功能细菌抗性蛋白 (defensin resistant mprF) (4.03%, 1.98% ~ 7.51%),其相对丰度均大于4.0%,平均相对丰度占总序列的43.52% (34.72% ~ 52.87%)。RND是细菌产生耐药性的重要机制^[23],其能使得细菌对药物的耐药性迅速增加,最突出的是非肠道致病菌,可以推测龙头较枝状管网和净化器有较高的ARGs污染风险。

由抗性基因统计图5(c)可知,四环素类抗生素 (12.88%, 7.90% ~ 18.49%)、氟喹诺酮类抗生素 (10.96%, 5.6% ~ 17.18%)、头孢菌素 (10.67%, 8.91% ~ 12.21%)、青霉素类抗生素 (10.38%, 8.23% ~ 11.89%)、大环内酯类抗生素 (8.61%, 6.05% ~ 13.67%)、碳青霉烯类抗生素 (8.04%, 5.78% ~ 10.04%)、肽类抗生素 (5.08%, 4.41% ~ 6.01%)的相对丰度均大于5.0%,平均相对丰度占总序列的66.63% (62.26% ~ 69.11%)。大环内酯

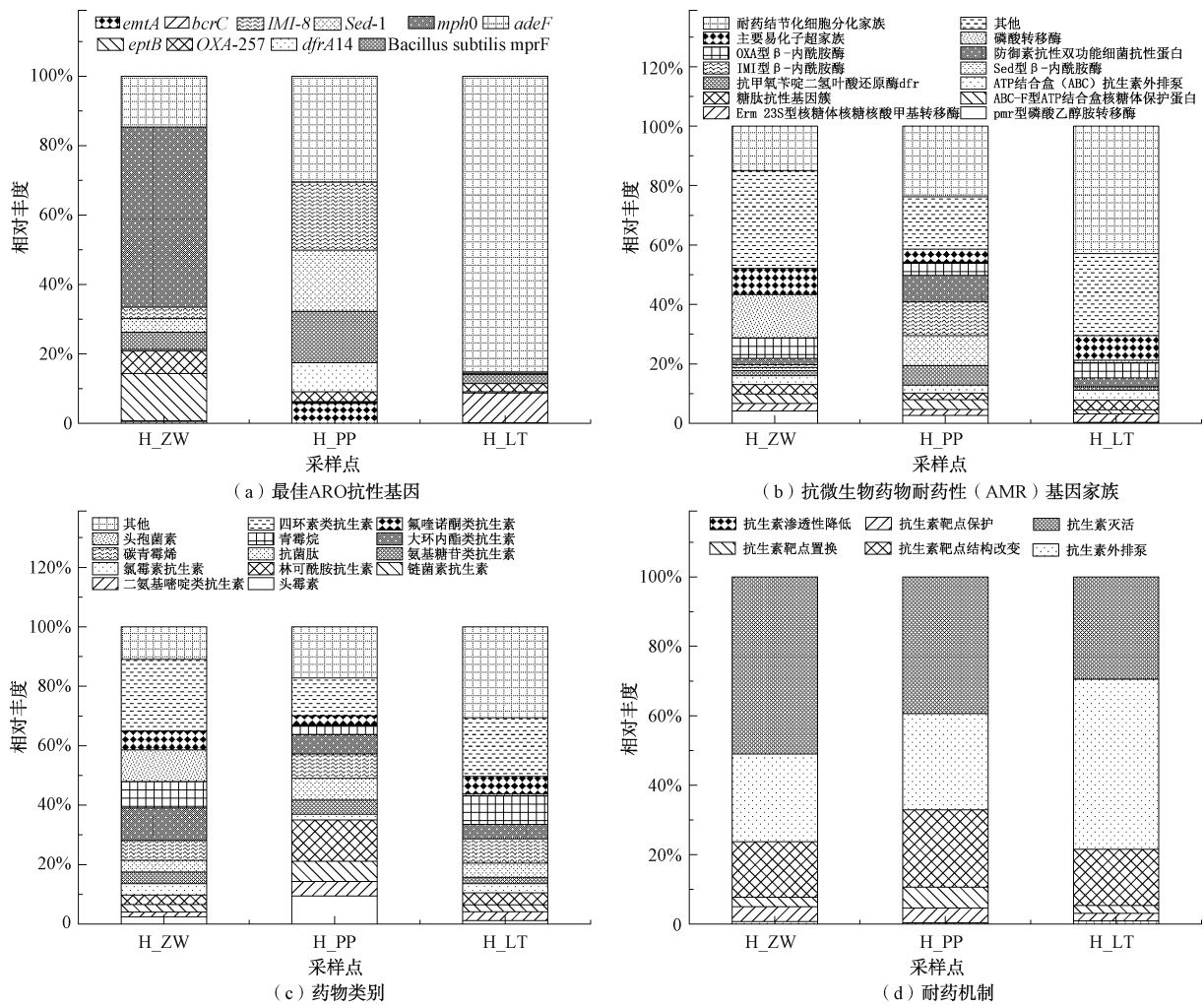


图5 抗性基因统计

Fig. 5 Statistics of ARGs

类抗生素在样品在 H_ZW 中明显高于其他两个样品;氟喹诺酮类抗生素、四环素类抗生素在样品在 H_LT 中有较高丰度值。3 组样品中药物种类丰度最高的为四环素类和氟喹诺酮类抗生素,这与 Li 等^[7]的研究结果一致,而耐药基因数量最多的则为外排泵类和大环内酯类,说明 3 组样品中大部分最佳 ARO 抗性基因绝对丰度并不高。

由抗性基因统计图 5(d) 可知,3 组样品中平均丰度较高的基因有抗生素灭活 (39.97%, 29.48% ~ 51.02%)、抗生素外排泵 (34.01%, 25.31% ~ 49.01%)、抗生素靶点结构改变 (18.12%, 15.98% ~ 22.22%) 三者平均相对丰度占样品总丰度的 92.10% (89.34% ~ 94.64%);抗生素灭活在 H_ZW 和 H_PP 样品中平均相对丰度较高,分别为 51.02% 和 39.42%,H_LT 样品中,抗生素外排泵具有最高

丰度值为 49.01%。在 ARO 耐药机制类型方面,抗生素失活、抗生素外排泵及抗生素靶点结构改变是主要类型^[24],抗生素灭活在 H_ZW 和 H_PP 样品中起主导,H_LT 样品中抗生素外排泵更为关键。

2.4 毒力因子注释

通过与细菌毒力因子数据库 (virulence factor database, VFDB) 比对,预测获得的基因注释结果如图 6 所示。可知,Type IV pili 基因在所有样品中含量最高,平均相对丰度为 4.24% (3.14% ~ 5.54%),其他平均相对丰度较高的基因主要有 *fbpABC* (3.76%, 2.65% ~ 5.28%)、beta-hemolysin/cytolysin (3.39%, 2.52% ~ 4.33%)、*LOS* (2.98%, 2.33% ~ 3.89%)、*Flagella* (2.96%, 2.28% ~ 4.25%),其相对丰度均大于 2.5%,平均相对丰度占总序列的 17.33% (16.42% ~ 18.85%)。Type IV pill、*LOS* 在 H_ZW 中

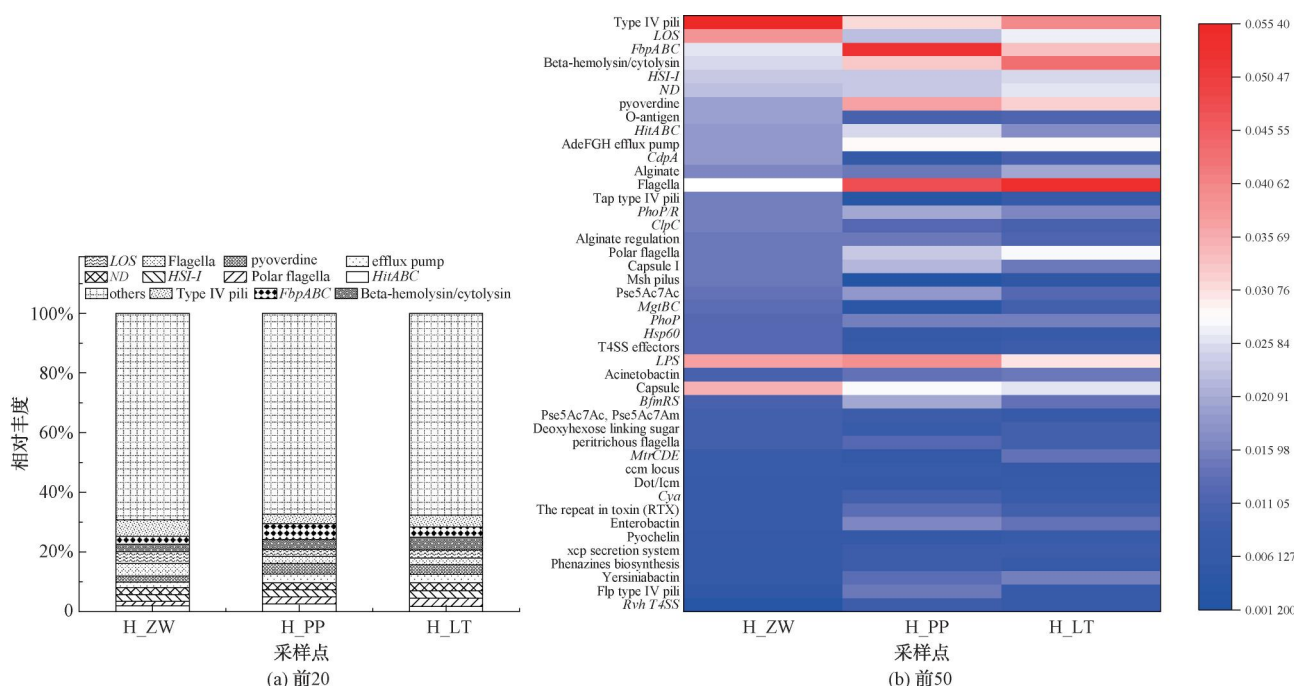


图6 VFDB 数据库丰度前 20 和 VFDB 丰度前 50 热图

Fig. 6 VFDB Top 20 Abundance Column Chart and VFDB_Top 50 Abundance Heat Map

明显高于其他两个样品;Flagella、Enterobactin 含量较少。fbpABC、Flagella 在 H_PP 中较高,Flagella、Beta-hemolysin/cytolysin 在 H_LT 中较高。

毒力因子主要包括防御型毒力因子、毒力相关基因的调控、非特异性毒力因子和进攻型毒力因子 4 种^[25-26]。进攻型毒力因子主要与黏附、分泌系统、侵袭、细菌毒素等相关^[27]。防御型毒力因子主要与位相变异、血清抵抗、抗吞噬作用、应激蛋白、酶等相关^[28]。Type IV pili、LOS 以及 Flagella 具有进攻和防御双重属性,作为进攻型毒力因子时主要与黏附及细菌毒素有关,而作为防御型毒力因子时,位相变异则起到主导作用。fbpABC 和 beta-hemolysin/cytolysin 则全是进攻型毒力因子,分别与黏附和细菌毒素有关。从病原体上进一步分析,fbpABC 基因的病原体多为脑膜炎双球菌(*N. meningitidis*), Type IV pili 基因的病原体多为土拉热弗朗西斯菌(*F. tularensis*), LOS、Flagella 以及 beta-hemolysin/cytolysin 则存在于多种病原菌体内。可知,这些基因的病原体多与人类的流感、鼻窦炎、中耳炎、结膜炎、脑膜炎等相关。

3 结论与展望

(1)住宅厨房给水管网末梢中细菌群落的丰度值在不同分类学水平上具有一定差异性,住宅厨房

给水管网末梢不同部位可能存在多种微生物,并且具备不同的特定功能,住宅厨房给水管网末梢不同部位均有微生物富集的风险。通过调控市政给水管网加氯量和增设小区管网自加氯系统等方式可以在一定程度上降低此类风险,也建议居民将自来水烧开后再进行饮用。

(2)碳水化合物代谢(12.47%, 12.30% ~ 12.80%)是住宅厨房给水管网末梢样品中 KEGG 注释到数量最多的通路。研究^[4]表明,微生物自身及其新陈代谢中间产物与余氯反应可能会产生新的消毒副产物,研究这些新污染物的转化机制,探讨其对住宅厨房给水管网末梢饮用水微生物学风险的影响具有重要意义。

(3)与饮用水源地、净水厂、市政给水管网、小区给水管网、二次加压水箱一样,建筑物内给水管网同样存在 ARGs 污染情况,且龙头较枝状管网和净化器有较高的 ARGs 污染风险,并可能对公众健康产生风险。目前城市生活饮用水供水系统并不能有效去除 ARGs 污染,加强水源地保护、对净水厂处理工艺进行升级改造是控制此类新污染物的有效手段。

(4)进攻型毒力因子是住宅厨房给水管网末梢细菌毒力的主要类型,type IV pili 基因(4.24%,

3.14%~5.54%) 在住宅厨房给水管网末梢样品中含量最高,住宅厨房给水管网末梢有一定的安全风险。未来应重视饮水系统微生物毒力因子的测定,可进一步研究某些特定毒力因子与水源性疾病之间的相关关系,以期更好地预防饮用水污染。

(5)开展给水管网附件、管件、接头以及连接管道部位微生物学研究具有重要意义,本研究不仅揭示了住宅厨房给水管网末梢微生物物种组成、ARGs、毒力因子分布情况,而且还表明 H_ZW、H_LT)以及 H_PP 等部位均有微生物富集风险,可能对公众健康安全产生影响。未来应加强对给水管网系统末梢微生物学风险监测的频率和范围,以防止水传染疾病的发生。

参考文献

- [1] BI Z H, LI T, XING X C, et al. Contribution of extracellular polymeric substances and microbial community on the safety of drinking water quality: By mean of Cu/activated carbon biofiltration[J]. *Chemosphere*, 2021, 286(2): 131686. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.131686.
- [2] VUKOVI B, MARKOVI S, STEVI S, et al. An overview of the radiation properties of spring water in the rural areas of Central Serbia[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2021(7): 2208-2222. DOI:10.1080/03067319.2021.1890060.
- [3] LEE K M, LEE H J, SEO J, et al. Electrochemical oxidation processes for the treatment of organic pollutants in water: Performance evaluation using different figures of merit[J]. *ACS ES&T Engineering*, 2022, 2(10): 1797-1824.
- [4] WANG F P, WEI D B, CHEN M, et al. A synthetical methodology for identifying priority pollutants in reclaimed water based on meta-analysis[J]. *Journal of Environmental Science, English Edition*, 2022, 112(2): 106-114.
- [5] HOSSEINI E K, DERAKHSHI P, RABBAN M, et al. Pollutants removal from dairy wastewater using live *Azolla filiculoides* in batch and continuous bioreactors [J]. *Water Environment Research*, 2021, 93(10): 2122-2134.
- [6] ZHANG H Y, ZHAO L T, LIU D B, et al. Early period corrosion and scaling characteristics of ductile iron pipe for ground water supply with sodium hypochlorite disinfection[J]. *Water Research*, 2020, 176(11): 1-10.
- [7] LI Z, LI T, XING X, et al. Inhibiting the increase of antibiotic resistance genes during drinking water distribution by superior microbial interface using Fe modified granular activated carbon [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 335(10): 130225. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.130225.
- [8] WANG Z K, LI L, ARISS R W, et al. The role of biofilms on the formation and decay of disinfection by-products in chlor(am)inated water distribution systems [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 753: 141606. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141606.
- [9] BENITEZ J S, RODRIGUEZ C M, CASAS A F. Disinfection byproducts (DBPs) in drinking water supply systems: A systematic review [J]. *Physics and Chemistry of the Earth*, 2021, 123: 102987. DOI: 10.1016/j.pce.2021.102987.
- [10] TANG H Y, ZHONG H L, PAN Y, et al. A new group of heterocyclic nitrogenous disinfection byproducts (DBPs) in drinking water: Role of extraction pH in unknown DBP exploration[J]. *Environmental Science and Technology*, 2021, 55(10): 6764-6772.
- [11] DING S K, DENG Y, BOND T, et al. Disinfection byproduct formation during drinking water treatment and distribution: A review of unintended effects of engineering agents and materials [J]. *Water Research*, 2019, 160: 313-329. DOI: 10.1016/j.watres.2019.05.024.
- [12] ZHU J G, LIU R Y, CAO N, et al. Mycobacterial metabolic characteristics in a water meter biofilm revealed by metagenomics and metatranscriptomics[J]. *Water Research*, 2019, 153: 315-323. DOI: 10.1016/j.watres.2019.01.032.
- [13] BAI Y, RUAN X H, XIE X, et al. Antibiotic resistome profile based on metagenomics in raw surface drinking water source and the influence of environmental factor: A case study in Huaihe River Basin, China [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 248(5): 438-447.
- [14] 黄晗,唐源英,陈祉潇,等. 16S rRNA 测序技术在饮用水全流程微生物多样性研究的应用[J]. *净水技术*, 2021, 40(7): 5-11, 132. HUANG H, TANG Y Y, CHEN Z X, et al. Application of 16S rRNA sequencing technology in research of whole process of microbial diversity in drinking water [J]. *Water Purification Technology*, 2021, 40(7): 5-11, 132.
- [15] HU D, HONG H, RONG B, et al. A comprehensive investigation of the microbial risk of secondary water supply systems in residential neighborhoods in a large city [J]. *Water Research*, 2021, 205: 117690. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117690.
- [16] 韩雪,孙坚伟,张力,等. 紫外氯胺组合消毒供水系统中病毒微生物的分布特征[J]. *环境科学*, 2021, 42(2): 860-866. HAN X, SUN J W, ZHANG L, et al. Distribution characteristics of viruses microorganisms in a water supply system with combined ultraviolet chloramine disinfection [J]. *Environmental Science*, 2021, 42(2): 860-866.

- [17] WEI Y, GU J, WANG X J, et al. Elucidating the beneficial effects of diatomite for reducing abundances of antibiotic resistance genes during swine manure composting[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 821: 153199. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153199.
- [18] HAN Z M, ZHANG Y, AN W, et al. Antibiotic resistomes in drinking water sources across a large geographical scale: Multiple drivers and co-occurrence with opportunistic bacterial pathogens [J]. *Water Research*, 2020, 183: 116088. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116088.
- [19] ANWAR A M, AHMED E A, SOUDY M, et al. Xconnector: Retrieving and visualizing metabolites and pathways information from various database sources[J]. *Journal of Proteomics*, 2021, 245: 104302. DOI: 10.1016/j.jprot.2021.104302.
- [20] ZHOU W, LI W Y, CHEN J P, et al. Microbial diversity in full-scale water supply systems through sequencing technology: A review[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(41): 25484–25496.
- [21] 李奕燃, 董昆, 于雪, 等. 利用 16S rRNA 高通量测序技术考察温度对生物脱氮过程中亚硝酸盐氧化菌代谢功能的影响[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(3): 980–988.
- LI Y R, DONG K, YU X, et al. Investigation on the effect of temperature on the metabolism and function of nitrite-oxidizing bacteria in the process of biological nitrification by 16S rRNA high-throughput sequencing technology [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2022, 16(3): 980–988.
- [22] 刘倩钰, 吴丽雯, 牛建军, 等. 细菌磷酸转移酶系统 (PTS) 的组成与功能研究进展[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(7): 2266–2277.
- LIU Q Y, WU L W, NIU J J, et al. Research progress of the composition and function of bacterial phosphotransferase system [J]. *Microbiology China*, 2020, 47(7): 2266–2277.
- [23] 张心宇, 杜雪飞, 邹桂玲, 等. 耐药结节细胞分化超家族介导鲍曼不动杆菌替加环素耐药机制研究[J]. *检验医学*, 2020, 35(1): 56–62.
- ZHANG X Y, DU X F, ZOU G L, et al. Mechanism of resistance modulation division efflux pumps mediated tigecycline-insensitive multidrugresistant *Acinetobacter baumannii* [J]. *Laboratory Medicine*, 2020, 35(1): 56–62.
- [24] FU C X, DING H J, ZHANG Q Q, et al. Comparative analysis of antibiotic resistance genes on a pig farm and its neighboring fish ponds in a lakeside district[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 303: 119180. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119180.
- [25] MIAO X, LIU C X, LIU M L, et al. The role of pipe biofilms on dissemination of viral pathogens and virulence factor genes in a full-scale drinking water supply system[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432: 128694. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.128694.
- [26] 许雪莲, 韩阿祥, 叶诗晴, 等. 温州口岸截获蜱体内微生物群落结构、抗生素抗性基因及毒力因子的宏基因组分析[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2021, 32(6): 763–771.
- XU X L, HAN A X, YE S Q, et al. Metagenomic analysis of microbial community structure, antibiotic resistance genes, and virulence factors of ticks captured at Wenzhou Port, Zhejiang Province, China [J]. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 2021, 32(6): 763–771.
- [27] PAKBIN B, BRUCK W M, ROSSEN J W A. Virulence factors of enteric pathogenic *Escherichia coli*: A review[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(18): 9922. DOI: 10.3390/ijms22189922.
- [28] SANTOS A M P, FERRARI R G, PANZENHAGEN P, et al. Virulence genes identification and characterization revealed the presence of the *Yersinia* High Pathogenicity Island (HPI) in *Salmonella* from Brazil [J]. *Gene*, 2021, 787: 145646. DOI: 10.1016/j.gene.2021.145646.

(上接第 34 页)

- [59] MINYUK P S, SUBBOTNIKOVA T V, BROWN L L, et al. High-temperature thermomagnetic properties of vivianite nodules, Lake El'gygytgyn, Northeast Russia [J]. *Clim Past*, 2013, 9(1): 433–446.
- [60] SEITZ M A, RIEDNER R J, MALHOTRA S K, et al. Iron-phosphate compound identification in sewage sludge residue[J]. *Environmental Science & Technology*, 1973, 7(4): 354–357.
- [61] 张净净, 胡书红, 陈伊克, 等. 泡沫浮选分离法的应用及前景[J]. *山东化工*, 2014, 43(8): 132–133.
- ZHANG J J, HU S H, CHEN Y K, et al. Application and prospect of froth flotation separation method [J]. *Shandong Chemical Industry*, 2014, 43(8): 132–133.
- [62] 杜令攀, 陈赐云, 钟晋, 等. 浅析磷矿选矿技术进展与问题对策[J]. *化工矿物与加工*, 2016, 45(1): 57–61.
- DU L P, CHEN C Y, ZHONG J, et al. Brief analysis of phosphate beneficiation technology progress and problem countermeasures[J]. *Industrial Minerals & Processing*, 2016, 45(1): 57–61.