



专论与综述

岸滩粪便污染指示菌来源与影响因素研究进展

戴峰^{1,3} 苏洁³ 付韵涵^{3,4} 方蕾² 樊景凤^{*3}

1 大连海洋大学水产与生命学院 辽宁 大连 116023

2 大连海洋大学海洋科学与环境学院 辽宁 大连 116023

3 国家海洋环境监测中心 国家环境保护近岸海域生态环境重点实验室 辽宁 大连 116023

4 大连海事大学 辽宁 大连 116026

摘要: 粪便污染指示菌(Fecal Indicator Bacteria, FIB), 如大肠杆菌、肠球菌和耐热大肠菌等是用于指示水体中污染程度的微生物, 但近年来的研究表明岸滩逐步成为 FIB 的重要储存库。微生物源示踪技术(Microbial Source Tracking, MST)等方法被广泛应用于溯源岸滩 FIB 污染, 但 FIB 进入岸滩环境后的生消机制尚不明确, 因此影响 FIB 在岸滩上生存、消亡的各类因素仍是目前研究的热点。基于此, 本文综述了岸滩生态系统中 FIB 的来源, 同时结合国内外研究进展分析了影响 FIB 生存的非生物因素、生物因素及间隙流动等其他影响因素, 并针对岸滩环境中 FIB 对人体健康的潜在风险提出相关建议, 以期降低游客的患病风险, 保障公共健康安全。

关键词: 岸滩, 粪便指示菌, 来源, 影响因素

Sources and influence factors of fecal indicator bacteria in coastal beaches: a review

DAI Feng^{1,3} SU Jie³ FU Yunhan^{3,4} FANG Lei² FAN Jingfeng^{*3}

1 Fisheries and Life College, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023, China

2 College of Marine Technology and Environment, Dalian Ocean University, Dalian, Liaoning 116023, China

3 State Environmental Protection Key Laboratory of Coastal Ecosystem, National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian, Liaoning 116023, China

4 Dalian Maritime University, Dalian, Liaoning 116026, China

Abstract: Fecal indicator bacteria (FIB) such as *Escherichia coli*, *Enterococcus* and thermotolerant *Escherichia coli* are indicator microorganisms used to indicate the degree of pollution in water bodies, but recent studies have shown that beaches have gradually become an important repository of FIB. Microbial source tracking technology are widely used to trace the source of FIB pollution on beaches, but the survival mechanism of FIB after entering the beach is unclear. Therefore, the influencing factors on survival of FIB on the beach are still the current research focus. This article reviews the sources of FIB in coastal and beach ecosystems, and analyzes influencing factors such as non-biological factors, biological

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2017YFC1404500)

***Corresponding author:** E-mail: jffan@nmemc.org.cn

Received: 28-08-2020; **Accepted:** 31-10-2020; **Published online:** 29-12-2020

基金项目: 国家重点研发计划(2017YFC1404500)

*通信作者: E-mail: jffan@nmemc.org.cn

收稿日期: 2020-08-28; 接受日期: 2020-10-31; 网络首发日期: 2020-12-29

factors, and interstitial flow that affect the survival of FIB. In addition, suggestions are provided addressing the potential risks of FIB to human health in the beach environment.

Keywords: coastal beaches, fecal indicator bacteria, sources, influencing factors

现今旅游业发展迅速, 每年会有大量游客到浴场及岸滩娱乐。但由于各地娱乐水域附近环境质量不同, 因此游客与浴场海水以及岸滩接触会增加患病风险。国外研究者自 20 世纪 50 年代开始, 调查游泳活动带来的健康风险问题并进行病原微生物的监测^[1]。结合流行病学研究发现, 粪便污染指示细菌(Fecal Indicator Bacteria, FIB)生理习性与肠道病原菌较为相似, 在外界生存时间也基本一致, 以之作为水质标准进行检测能够更直观地评估人体暴露在该环境中而感染肠道疾病的风险。

岸滩作为粪便指示菌和病原体微生物的栖息地和储存库, 引起了学者们对于岸滩以及娱乐水域中病原生物引发的与人类健康相关问题的广泛关注。岸滩上生存的 FIB 受多种因素影响: 环境因素如降雨、光照、温度等; 生物因素如生物膜的形成以及种群生态学与遗传学等; 岸滩上迁移作用的影响。岸滩上的微生物迁移不仅发生在整个岸滩的水平方向^[2], 也发生在地下水位的垂直方向^[3], 包括沙孔内的间隙流、沉积物迁移、波浪作用和地面径流的过程。研究岸滩内存在的

FIB 和潜在污染源对于公共卫生的影响^[4], 能够更全面地评估和预测可能引起的健康风险变化, 并作为监测娱乐水域安全的方法。Fan 等在前期海洋病原微生物相关工作的基础上^[5-7], 编制了海洋粪便污染指示菌——粪大肠菌群测试纸片法, 实现了海洋环境中粪大肠菌群的快速检测, 并将此技术纳入我国海洋行业标准^[8], 用于监测及评价我国海洋环境粪便污染状况^[9-10]。

1 岸滩生态系统中的 FIB

岸滩中的许多微生物是适应了岸滩环境的外源微生物, 包括源自污水或动物粪便的 FIB (大肠杆菌、粪便大肠菌群和肠球菌)及其他病原菌。进入岸滩的 FIB 可能会经历包括种群复制、长期持续、迁移到其他区域和死亡等过程(图 1)。从生态和公共卫生的角度来看, FIB 作为评估岸滩卫生状况的指示生物, 需要确定其来源以及对环境造成的影响。

FIB 可以通过多种途径到达岸滩, 包括动物粪便、点源和非点源污染等(表 1)。Anderson 等发现不同动物携带的 FIB 可能在水体和沉积物中存在差异, 当流域内有多种污染源或携带源, 岸滩污染

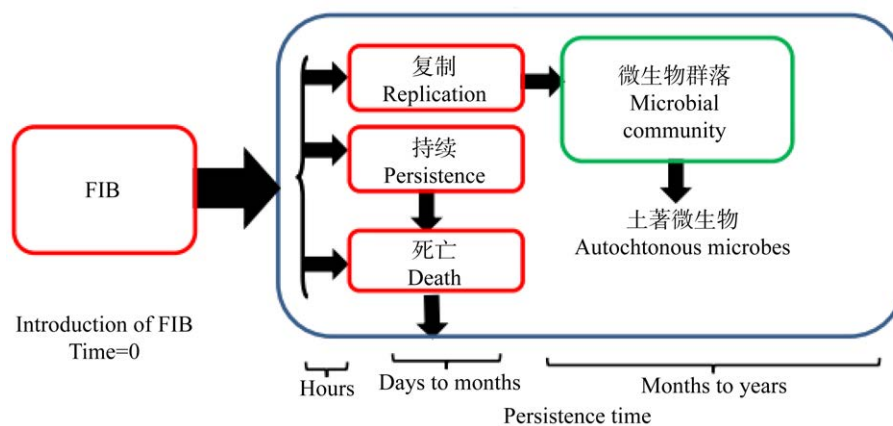


图 1 FIB 进入岸滩生态系统后的生存、消亡过程

Figure 1 The change process of FIB into the beach ecological community over time

表 1 岸滩中 FIB 的来源示例

Table 1 Examples of sources of FIB in coastal beaches

来源 Source	微生物 Microbe	浓度 Observed concentrations	参考文献 References
沙滩 Beach sand	<i>Escherichia coli</i>	0.68 Log ₁₀ CFU/g-dry sand	[3]
		0.53 Log ₁₀ CFU/g-dry sand	
	<i>Enterococci</i>	10 ^{2.42} CFU/100 g-sand	[11]
		10 ^{1.67} CFU/100 g	
	<i>Enterococci</i>	2429 CFU /100 g	[12]
	<i>Escherichia coli</i>	2.6×10 ⁶ CFU/100 mL	[13]
淡水和沉积物 Freshwater and sediment	Fecal coliforms	≈10 ² CFU/100 mL-water	[15]
		≈5×10 ⁴ CFU/100 g-soil	
	Fecal coliforms	≈4.38×10 ⁷ CFU/L	[16]
	Fecal coliforms	≈1.09×10 ³ CFU/L	[17]
	<i>Enterococcus faecalis</i>	≈32.5 CFU/L	
	Fecal coliforms	≈3.27×10 ⁴ CFU/L	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	≈2.42×10 ³ CFU/L	
	岸线 Freshwater shore	<i>Escherichia coli</i>	8.33×10 ⁴ –4.17×10 ⁵ MPN/mL
潮间带 Inter-tidal zone	<i>Enterococci</i>	1.17×10 ⁴ CFU/100 mL	[19]
海鸥 Gulls	<i>Escherichia coli</i>	0.8–87×10 ⁵ CFU/L	[20]
		<i>Enterococcus</i>	3.3×10 ⁴ –1.6×10 ⁷ CFU/L
狗 Dog	<i>Enterococcus</i>	3.9×10 ¹ CFU/g	[21]
鸟类 Bird	<i>Enterococcus</i>	3.3×10 ¹ CFU/g	[21]
海岸前滩 Foreshore sand	<i>Escherichia coli</i>	4.8×10 ³ CFU/100 mL	[22]

情况会变得更加复杂^[15]。野生动物能够影响流域水和沉积质中的粪便细菌种群,通过检测狗、海鸟、虾和人类排泄物中肠球菌的浓度,并结合单位时间内岸滩上个体数量,推断出沙子中的 FIB 来源^[11,23]。Riedel 等在一项研究中发现狗是造成佛罗里达州迈阿密某岸滩上肠球菌水平变化的主要原因^[21]。Schomaker 等发现,水禽的数量与环境的肠球菌与大肠杆菌浓度相关^[22];并且海鸥会从人类废弃场所摄入到相关微生物(FIB 及其他病原菌),并作为媒介带到岸滩,污染沙子和水^[20]。Bonilla 等研究发现,平均一只海鸥能够影响 3 m² 的沙子中肠球菌水平^[12]。Goodwin 等在加利福尼亚南部岸滩进行了 3 年的跟踪调查,发现海鸥数量与岸滩上的肠球菌水平具有正相关关系^[24]。

微生物源示踪技术(Microbial Source Tracking,

MST)研究能够准确发现 FIB 来源^[25]。Edge 等^[13]和 Shrestha 等^[25]应用了多种方法,包括对岸滩上排泄物的观察、大肠杆菌 DNA 图谱和抗菌素耐药性分析,确定狗和鸟类(例如加拿大鹅和海鸥)为岸滩上 FIB 的主要来源;García-Aljaro 等通过文献证明污水中存在的大多数微生物包括病原体都来自人类肠道菌群,所以人类活动也是岸滩微生物的主要来源之一^[26]。点源污染包括污水处理厂出水及排水管流水^[27],非点源污染包括降雨径流、污水泄漏等^[28-29]。Ming 等通过大量研究证明,由于自然环境中的 FIB 具有很好的粘附性,能够在沙砾中大量存在,并通过降雨、地表径流等途径被转移和输入海^[29]。

尽管各个岸滩的周边环境不尽相同,但可以肯定的是岸滩上的禽类、宠物以及人类是 FIB 的主要携带源。

2 FIB 生存影响因素

许多环境因素能够影响岸滩中 FIB 的生长, 包括水分、温度、阳光、氧气和养分等非生物因素, 包括竞争和捕食等在内的生物因素, 以及其他因素。

2.1 非生物因素

诸多环境因素对于 FIB 有着综合影响, 但各因素中仍有主要因素或次要因素。环境条件不同, 起主要作用的因素也会随之变化, 并直接影响到 FIB 分布以及丰度^[30]。

2.1.1 含水量及降雨

岸滩上所有区域都有 FIB 存在, 从相对干燥的后滩到潮间带的湿沙^[31]。FIB 至少需要 8% 的水分才能维持存活^[18], 因此岸滩区域湿沙中的 FIB 相对于其他区域丰度更高^[14,19]。然而, 水分含量过多也有一定影响。例如, Zehms 等发现大肠杆菌浓度在土壤含水量为 14% 时较 34% 时更高^[32]。沙子的含水量取决于岸滩上的位置、粒度和地下水位的深度等因素。在岸滩上, 水存在于沙砾(孔隙水)的间隙中, 最接近水域的位置含水量基本在 12%–25%^[33-34]。

降雨通过增加岸滩上水分含量影响岸滩中大肠杆菌的浓度^[16,35]。然而, Goodwin 等研究佛罗里达几个岸滩时发现, 降雨对沙中肠球菌浓度无影响^[24]。由此可以提出 3 种不同的假设: (1) 降雨可能会将 FIB 从空气转移到沙中; (2) 当水分增加时, FIB 可能会从失活状态中恢复过来; (3) FIB 可能会因环境变化而更适宜生存、繁殖。

2.1.2 光照

波长为 300 nm 以下的紫外光可以导致水生环境以及岸滩中的微生物失去活性^[17,36]。虽然短波灭菌紫外线(UltraViolet C, UVC, 200–275 nm)光对于微生物的灭活效果最好, 中波紫外线(UltraViolet B, UVB, 275–320 nm)直接能够损害微生物基因组, 但是这种波长会被臭氧和大气中的其他成分吸收^[37], 并且岸滩上沙子也能够为

微生物提供一定的保护作用。Mattioli 等通过实验发现, 粪便指示细菌的衰减速率随日照强度而变化^[38]。Whitman 等确定密歇根湖中的大肠杆菌水平在早晨和阴天时比下午或晴天高, 并且只与日照相关, 与紫外线辐射无关^[39]。同样, 海水中大肠杆菌水平在早上 8 点比中午更高, 原因可能是由于日照量增加导致部分大肠杆菌失活死亡^[40]。Mika 等经过研究发现, 光照并不是导致岸滩上大肠杆菌浓度持续下降的主要因素; 紫外线辐射不会影响沙子中大肠杆菌水平^[41]。王亚军等发现黑暗条件下大肠杆菌和肠球菌水平仍然较高, 沙子的温度可能是 FIB 浓度下降速度出现差异的一个重要因素^[42]。

2.1.3 温度

岸滩上的大肠杆菌能在较凉爽的温度下生存更长时间, 对接种大肠杆菌的土壤或沙子进行研究并在 4–37 °C 下培养, 结果表明大肠杆菌在较低温度下的死亡率较低, 沙子中的大肠杆菌和肠球菌在高于 50 °C 的温度下存活率低^[18,41-42]。在夏季, 较为温暖的温度可能会促进大肠杆菌浓度的增加^[25,43]。Alm 等^[44]和 Byappanahalli 等^[45]通过研究发现, 大肠杆菌在 4–44.5 °C 环境温度范围内繁殖速率有一个短暂增加的过程, 在 23–32 °C 之间大肠杆菌的密度水平达到最大。

有研究发现, 即使在连续寒冷的天气下, 大肠杆菌也会在一些淡水岸滩上存在。当 12 月加拿大休伦湖被冻结并且积雪覆盖时, 依旧能够分离出大肠杆菌^[46]。密歇根湖南部 18 个月采集的连续样本数据显示冬季大肠杆菌浓度降低, 但在地下水位附近的砂岩还存在大肠杆菌^[47]。然而, 在 1 月份密歇根湖北部岸滩的沙子中检测不到大肠杆菌^[32], 这表明冬季月份在一些岸滩存在的大肠杆菌来自其他途径。

2.1.4 养分利用率

大肠杆菌对于养分的利用率会影响其在岸滩中的存活。在休伦湖的岸滩中进行的一项研究对总有机碳、总磷和总氮以及大肠杆菌浓度进行测

定, 发现营养物可以促进大肠杆菌的进一步增长, 大肠杆菌数量可增加5个数量级^[46]。研究报告表明, 当沙子表面附着大型藻类时, 大肠杆菌和肠球菌的存活率以及繁殖速率更高^[42]。苏洁等研究发现大肠杆菌在高压灭菌海水中比过滤海水中存活时间长, 说明在海水贫营养状态下细菌死亡速度较快^[48]。

2.2 生物因素

2.2.1 生物膜

生物膜由细胞外基质附着在颗粒上, 细胞外基质的主要成分通常是胞外多糖(Exopolysaccharides, EPS); 生物膜大多由细菌组成, 少数由其他微生物组成, 如藻类和原生动物。EPS可以促成潮间带沉积物的稳定性^[49], 有助于FIB在许多环境, 包括极端环境内存活, 例如人体、热液喷口等^[49]。

生存在沙子中细菌的总丰度远大于孔隙水中细菌丰度, 孔隙水细菌丰度占总丰度的0.2%^[50-51]。生物膜覆盖的沙子可能是导致岸滩上水生病原体增加的主要因素。在实验室研究中, 大肠杆菌通过水流冲洗, 在没有生物膜的情况下, 只有大约9%的大肠杆菌能够保留在孔隙中; 但是在具有处在生物被膜处于发育期的沙砾中, 相同条件下能达到47%^[52]。除此之外, 相当大比例的FIB和病原体进入岸滩环境后可能会在沙砾等颗粒之中形成的生物膜内受到保护^[53-54]。岸滩上只能从孔隙水中回收大约10%的肠球菌, 这表明其余部分均附着在沙砾上^[55]。毕宏宇等研究发现, 粪便污染指示细菌粪大肠菌群和肠球菌主要分布在海水以及干砂环境中, 其中干砂环境中肠球菌浓度通常比其他介质中肠球菌浓度高几个数量级^[9]。

2.2.2 种群生物学与遗传学

尽管目前对岸滩FIB种群生物学和遗传学的研究较少, 但仍有一些实验可以证明FIB通过遗传的方式能够进行种群的自我维持。沙砾中大肠杆菌的主要来源可能会影响其持久性或增长的潜力。夏季在淡水岸滩上观察到沙子中大肠杆菌密度的增加, 部分原因是其来源发生了变化。春季

自密歇根湖海滩采集的样品中的大肠杆菌源自经过处理的废水, 但是随着季节的变化, 到了夏季和秋季, 由禽类带来的大肠杆菌所占比例有所增加^[15]。

基因分型是探索环境中细菌之间相关性的有效手段^[52]。Edge等基于REP-PCR方法得到的结果表明安大略湖岸滩中的大肠杆菌种群主要源自鸟类, 大肠杆菌的独特性使得它们可能更适合于在岸滩中生存; 岸滩附近水域中的大肠杆菌种群主要来源于沙子, 而不是直接来源于禽类的粪便沉积^[13]。Walk等采用多位点酶电泳和多菌落序列分型(Multilocus Sequence Typing, MLST)方法对来自休伦湖和圣克莱尔河岸滩潮间带的6个样品中回收的大肠杆菌进行分析, 通过对样品进行多基因座序列分型分析, 揭示了其具有广泛的遗传多样性^[56]。

2.2.3 不可培养状态

细菌在受到环境刺激时会应激进入一种不可培养(Viable but Nonculturable, VBNC)的状态^[57]。在这种状态下, FIB和肠道病原体仍具有新陈代谢活性, 当遇到有利的条件时进行复苏并感染宿主^[58-59]。此外, 由于受到盐度、营养水平和温度等条件的影响, VBNC诱导的应激反应对不同物种的传导应力不同^[57]。因为需要通过应用微生物学培养方法检测和监测FIB及病原体在环境中的水平, 所以VBNC现象在任何微生物实验中都是一个重要影响因素, 应在岸滩环境中进一步探索。

2.3 其他因素

除了环境因素与生物因素影响FIB的生存外, 微生物的生存还受其他因素的影响。微生物在海水以及岸滩中的位置不是一成不变的, 在地表径流、降雨、潮汐等作用下, 海水与岸滩中的微生物会进行交汇以及位置的改变, 携带微生物的海水在流动过程中会残留一部分在岸滩上。苏洁等用绿色荧光蛋白(Green Fluorescent Protein, GFP)基因标记大肠杆菌, 检测其在海水中的存活及稳定性, 结果表明基因标记对大肠杆菌在灭菌海水

中的存活率影响不大,因此标记菌株在自然海水中的存活时间可较真实地反映土著菌株在自然环境下的存活能力^[48]。

2.3.1 间隙流动

在岸滩上,由于海水能够通过沙子之间的间隙形成间隙流,所以由海水所携带的微生物随之迁移,微生物的间隙迁移已经通过多孔分层实验进行了证实^[60-61]。Vogel 等发现,FIB 在间隙中流动方式不同,粪肠球菌会优先附着在空气/水界面,而大肠杆菌对空气/水以及沙界面的亲和程度相同^[62]。Yamahara 等观察到几乎 100%的细菌能够通过间隙孔进行迁移^[63];Boehm 等发现在潮汐和地下水的作用下可以将微生物运输到波浪区^[64]。Johnston 等通过对湿地与附近流域进行研究发现,在不同的水位深度 FIB 浓度不同,这是由于水柱对于 FIB 浓度的负荷能力不同^[65];并且在发生潮汐的情况下,FIB 最大值出现在湿地表层至中层^[65]。

2.3.2 不同介质交换运输

19 世纪末成熟完善的泥沙运移理论可以作为模拟水环境中泥沙运移的理论基础^[66],通过胶体过滤理论可以了解微生物在沙质中沉积和释放(由沉积物或胶体中释放到环境)的物理化学过程^[67]。除了在砂质基质和间隙孔隙水之间进行细菌细胞的物理交换外,Lovins 等发现外源细菌能够与本地细菌交换基因,这种交换增加了影响微生物群落组成的整个运输过程的复杂性^[68]。

在整个浴场岸滩表面环境中,波浪通过运输作用会给微生物带来更大影响,一些研究发现水域的水质与相邻的沙质相关。Russell 等^[69]专门评估了肠球菌通过渗透海水从自然污染的岸滩沙到地下水位的运输,他们发现,海水渗透可能会影响肠球菌与岸滩的分离,并将其输送至地下水。然后,这些分离的肠球菌可以通过地下水被排放到沿海水域^[69]。

Alm 等发现在岸滩的波浪冲刷区,大肠杆菌的密度与相邻的地表水密度之间具有显著相关性^[20]。Edge 等使用 MST 技术确定安大略湖岸滩水

中的大肠杆菌主要来源于离岸不超过 150 m 的岸滩沙子^[13]。Bonilla 等的研究表明,在岸滩海水中发现的 FIB 成分组成与沙子中的细菌更相似,而与废水等其他潜在来源并不相似^[70]。

2.3.3 生长诱导运输

生物膜对细菌的吸附作用过程会导致大量致病菌富集,进而影响 FIB 的传播扩散。Bonilla 等观察到无降雨期间随着时间的推移,生物膜可能会覆盖整个岸滩环境,并且生物膜中存在的 FIB 也会随之在岸滩中扩散^[12]。因此,细菌可以在没有载液或沙基质的情况下于岸滩和其他多孔环境中移动,并以一定速率在环境系统中传播,但这种传播与迁移受到生物膜的形成能力以及 EPS 的产生速率所控制。

3 建议与展望

岸滩作为一种有机物质和水存在基质,可以为微生物提供生存环境,并吸附营养物质为微生物生存提供条件。微生物的生态位被限制在微环境的水平,其中孔隙空间和沙砾表面为微生物提供生存,复制和形成种群的机会,在沙地环境中产生微生物群落。相对于其他具有生物学挑战性的栖息地甚至极端环境来说,岸滩的环境具有一定优势,有助于生物膜的形成,除了波浪和降雨的干扰外,潮湿的岸滩为 FIB 提供了非常合适的环境。岸滩中前滩 FIB 的密度最高,而且前滩是儿童和老年人数量最多,最活跃的区域;同时儿童与老年人也正是最易患病的人群。因此,建议在设计岸滩时应考虑陆上和近岸污染物的来源和沿海动态,因为基础设施的变化对沙子和水质都有很大影响,由于沙子中 FIB 密度更高,FIB 能够在岸滩上生存更长的时间,因此可能需要长期控制以实现长期改善。管理者应当结合建设性措施,如加强污水管道的维护和检修、新建蓄水池等,以降低游客的患病风险,保障公共健康安全。

如何快速、高效地检测出岸滩中 FIB 污染来源,对于进一步研究 FIB 在岸滩环境中的传播扩散

具有至关重要的作用,也是未来的研究热点。尽管目前微生物源示踪技术已经可以精确识别 FIB 污染来源,但新型特异性生物标记在自然环境中的衰亡时间仍会影响溯源准确性。指示生物作为水质指标的有效程度也取决于海水以及岸滩环境中存在的微生物类型,但对所有可能的病原体进行量化并不现实,因此通过量化 FIB 进行人类健康风险评估仍具有一定的局限性,亟须开发一种能够更准确评估 FIB 对人类健康影响的方法。

目前关于 FIB 在环境中生存与消亡机制的相关研究较少,研究对象主要集中于大肠杆菌和肠球菌,而对于其他 FIB 还需要进一步研究。VBNC 作为介于存活与消亡的中间状态,也是研究 FIB 消亡机制的一个重要影响因素。FIB 在受到外界影响因素(包括非生物及生物因素)胁迫时即会进入 VBNC 状态,尽管现在已经探索出不同细菌 VBNC 的诱因以及复苏条件,但是关于粪便污染指示菌 VBNC 状态形成以及复苏机制尚不明确。如何通过 FIB VBNC 状态的调控来实现最终达到降低环境健康风险的目的,以及 FIB 如何与岸滩生态环境相互作用、FIB 在岸滩环境中的生存、消亡及归趋过程等机制还有待后续深入研究。

REFERENCES

- [1] Wade TJ, Pai N, Eisenberg JNS, Colford Jr JM. Do U.S. environmental protection agency water quality guidelines for recreational waters prevent gastrointestinal illness? A systematic review and meta-analysis[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2003, 111(8): 1102-1109
- [2] Lee E, Shin D, Hyun SP, Ko KS, Moon HS, Koh DC, Ha K, Kim BY. Periodic change in coastal microbial community structure associated with submarine groundwater discharge and tidal fluctuation[J]. *Limnology and Oceanography*, 2017, 62(2): 437-451
- [3] Wu MZ, O'Carroll DM, Vogel LJ, Robinson CE. Effect of low energy waves on the accumulation and transport of fecal indicator bacteria in sand and pore water at freshwater beaches[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(5): 2786-2794
- [4] Rajapaksha P, Elbourne A, Gangadoo S, Brown R, Cozzolino D, Chapman J. A review of methods for the detection of pathogenic microorganisms[J]. *Analyst*, 2019, 144(2): 396-411
- [5] Fan JF, Ming HX, Li LL, Su J. Evaluating spatial-temporal variations and correlation between fecal indicator bacteria (FIB) in marine bathing beaches[J]. *Journal of Water and Health*, 2015, 13(4): 1029-1038
- [6] Shi Y. Preliminary study of human health risk assessment for typical bacteria on marine bathing beach[D]. Dalian: Master's Thesis of Dalian Ocean University, 2016 (in Chinese)
石岩. 海水浴场中典型细菌人体健康风险评估初探[D]. 大连: 大连海洋大学硕士学位论文, 2016
- [7] Shi Y, Chang YK, Ming HX, Ma YJ, Su J, Gao HT, Li BC, Guan DM, Wang B, Zhao W, et al. Human health risk assessment of Dalian Fujiashuang marine bathing beach[J]. *Marine Environmental Science*, 2017, 36(4): 517-522 (in Chinese)
石岩, 常永凯, 明红霞, 马玉娟, 苏洁, 高海涛, 李博超, 关道明, 王斌, 赵文, 等. 大连付家庄海水浴场人体健康风险评估[J]. *海洋环境科学*, 2017, 36(4): 517-522
- [8] State Oceanic Administration. HY/T 147.5-2013 Code of practice for marine monitoring technology Part 5: Marine ecology[S]. Beijing: Standards Press of China, 2013 (in Chinese)
国家海洋局. HY/T 147.5-2013 海洋监测技术规程 第 5 部分: 海洋生态[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013
- [9] Bi HY, Ming HX, Ma YX, Su J, Sun ZH, Wang YT, Jin Y, Fan JF. Screening and distribution of important pathogenic bacteria in different medium of typical recreational beaches in Dalian[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2019, 34(2): 204-213 (in Chinese)
毕宏宇, 明红霞, 马悦欣, 苏洁, 孙志浩, 王艳涛, 金媛, 樊景凤. 大连典型娱乐海水浴场重要病原细菌筛选及其在不同介质中的分布[J]. *大连海洋大学学报*, 2019, 34(2): 204-213
- [10] Zhang WW, Wang JY, Fan JF, Gao DL, Ju HY. Effects of rainfall on microbial water quality on Qingdao No. 1 Bathing Beach, China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, 66(1/2): 185-190
- [11] Cui HL, Yang K, Pagaling E, Yan T. Spatial and temporal variation in enterococcal abundance and its relationship to the microbial community in Hawaii beach sand and water[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(12): 3601-3609
- [12] Bonilla TD, Nowosielski K, Cuvelier M, Hartz A, Green M, Esiobu N, McCorquodale DS, Fleisher JM, Rogerson A. Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2007, 54(9): 1472-1482
- [13] Edge TA, Hill S, Seto P, Marsalek J. Library-dependent and library-independent microbial source tracking to identify spatial variation in faecal contamination sources along a

- Lake Ontario beach (Ontario, Canada)[J]. *Water Science & Technology*, 2010, 62(3): 719-727
- [14] Shah AH, Abdelzaher AM, Phillips M, Hernandez R, Solo-Gabriele HM, Kish J, Scorzetti G, Fell JW, Diaz MR, Scott TM, et al. Indicator microbes correlate with pathogenic bacteria, yeasts and helminthes in sand at a subtropical recreational beach site[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2011, 110(6): 1571-1583
- [15] Anderson KL, Whitlock JE, Harwood VJ. Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(6): 3041-3048
- [16] Long WF, Huang C, Yang JJ, Wang JH. Investigation of microorganisms contamination in bathing beach[J]. *Journal of Environment and Health*, 2010, 27(2): 135-137 (in Chinese)
龙文芳, 黄春, 杨建军, 王基鸿. 海滨浴场微生物指标分析及水质卫生学评价[J]. *环境与健康杂志*, 2010, 27(2): 135-137
- [17] Davies-Colley RJ, Bell RG, Donnison AM. Sunlight inactivation of enterococci and fecal coliforms in sewage effluent diluted in seawater[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(6): 2049-2058
- [18] Sampson RW, Swiatnicki SA, Osinga VL, Supita JL, McDermott CM, Kleinheinz GT. Effects of temperature and sand on *E. coli* survival in a northern lake water microcosm[J]. *Journal of Water and Health*, 2006, 4(3): 389-393
- [19] Wright ME, Abdelzaher AM, Solo-Gabriele HM, Elmir S, Fleming LE. The inter-tidal zone is the pathway of input of *Enterococci* to a subtropical recreational marine beach[J]. *Water Science & Technology*, 2011, 63(3): 542-549
- [20] Alm EW, Daniels-Witt QR, Learman DR, Ryu H, Jordan DW, Gehring TM, Domingo JS. Potential for gulls to transport bacteria from human waste sites to beaches[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 615: 123-130
- [21] Riedel TE, Thulsiraj V, Zimmer-Faust AG, Dagit R, Krug J, Hanley KT, Adamek K, Ebentier DL, Torre R, Cobian U, et al. Long-term monitoring of molecular markers can distinguish different seasonal patterns of fecal indicating bacteria sources[J]. *Water Research*, 2015, 71: 227-243
- [22] Schomaker R, Gasper B. Waterfowl influence on fecal indicator bacteria in central Florida freshwater lakes[J]. *Fine Focus*, 2018, 4(1): 67-79
- [23] Nguyen KH, Senay C, Young S, Nayak B, Lobos A, Conrad J, Harwood VJ. Determination of wild animal sources of fecal indicator bacteria by microbial source tracking (MST) influences regulatory decisions[J]. *Water Research*, 2018, 144: 424-434
- [24] Goodwin KD, Gruber S, Vondrak M, Crumpacker A. Watershed assessment with beach microbial source tracking and outcomes of resulting gull management[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(18): 9900-9906
- [25] Shrestha A, Kelty CA, Sivaganesan M, Shanks OC, Dorevitch S. Fecal pollution source characterization at non-point source impacted beaches under dry and wet weather conditions[J]. *Water Research*, 2020, 182: 116014
- [26] García-Aljaro C, Blanch AR, Campos C, Jofre J, Lucena F. Pathogens, faecal indicators and human-specific microbial source-tracking markers in sewage[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 126(3): 701-717
- [27] He MJ, Feng LY, Lam TC. Application of QMRA to analyze the public health risks from recreational beach in Kanaha beach park, Hawaii[J]. *Environmental Protection Science*, 2017, 43(6): 117-123 (in Chinese)
何铭婧, 冯丽颖, 林芷晴. 夏威夷 Kanaha 海滩微生物定量风险评估[J]. *环境保护科学*, 2017, 43(6): 117-123
- [28] He YK. Distribution of bacterial pathogens in Qinhuangdao beaches and their quantitative microbial risk assessment[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University, 2018 (in Chinese)
何艺科. 秦皇岛海滨浴场病原菌分布及其风险评估[D]. 天津: 天津大学硕士学位论文, 2018
- [29] Ming HX, Su J, Gu YB, Shi Y, Jin Y, Fan JF. Occurrence of fecal and non-fecal sources bacteria during several overlap rainfall events at Fujiazhuang bathing beach in Dalian, China[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2018, 191(1): 012070
- [30] King AM. Relationships between fecal indicator bacteria and environmental factors at Edgewater beach[D]. Akron: Master's Thesis of The University of Akron, 2016
- [31] Ishii S, Hansen DL, Hicks RE, Sadowsky MJ. Beach sand and sediments are temporal sinks and sources of *Escherichia coli* in lake superior[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(7): 2203-2209
- [32] Zehms TT, McDermott CM, Kleinheinz GT. Microbial concentrations in sand and their effect on beach water in door county, Wisconsin[J]. *Journal of Great Lakes Research*, 2008, 34(3): 524-534
- [33] Abdelzaher AM, Wright ME, Ortega C, Solo-Gabriele HM, Miller G, Elmir S, Newman X, Shih P, Bonilla JA, Bonilla TD, et al. Presence of pathogens and indicator microbes at a non-point source subtropical recreational marine beach[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(3): 724-732
- [34] Enns AA, Vogel LJ, Abdelzaher AM, Solo-Gabriele HM, Plano LRW, Gidley ML, Phillips MC, Klaus JS, Piggot AM, Feng ZX, et al. Spatial and temporal variation in indicator microbe sampling is influential in beach management decisions[J]. *Water Research*, 2012, 46(7): 2237-2246
- [35] Tan SQ, Chen HX, Chen YT, Shen LJ, Wu JY, Cheng R, Zheng X. Occurrence and source analysis of fecal pollutants in Wenyu River basin of Beijing based on FIB[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, 39(12): 4064-4074 (in Chinese)

- Chinese)
谭送琴, 陈惠鑫, 陈奕童, 申亮杰, 吴佳忆, 程荣, 郑祥.
基于 FIB 的北京温榆河流域粪便污染物分布特征和源解析[J]. 环境科学学报, 2019, 39(12): 4064-4074
- [36] Romero OC, Straub AP, Kohn T, Nguyen TH. Role of temperature and suwannee river natural organic matter on inactivation kinetics of rotavirus and bacteriophage MS2 by solar irradiation[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(24): 10385-10393
- [37] Schuch AP, Menck CFM. The genotoxic effects of DNA lesions induced by artificial UV-radiation and sunlight[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2010, 99(3): 111-116
- [38] Mattioli MC, Sassoubre LM, Russell TL, Boehm AB. Decay of sewage-sourced microbial source tracking markers and fecal indicator bacteria in marine waters[J]. Water Research, 2017, 108: 106-114
- [39] Whitman RL, Nevers MB, Korinek GC, Byappanahalli MN. Solar and temporal effects on *Escherichia coli* concentration at a lake Michigan swimming beach[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(7): 4276-4285
- [40] Hamilton MJ, Hadi AZ, Griffith JF, Ishii S, Sadowsky MJ. Large scale analysis of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from Avalon Bay, CA[J]. Water Research, 2010, 44(18): 5463-5473
- [41] Mika KB, Imamura G, Chang C, Conway V, Fernandez G, Griffith JF, Kampalath RA, Lee CM, Lin CC, Moreno R, et al. Pilot- and bench-scale testing of faecal indicator bacteria survival in marine beach sand near point sources[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 107(1): 72-84
- [42] Wang YJ, Liu CH, Lin WH, Wang F, Shi CB, Wu SQ. Effect of two different carbon sources on water quality and microbial community in grass carp culture systems[J]. Freshwater Fisheries, 2015(3): 57-63,83 (in Chinese)
王亚军, 刘春花, 林文辉, 王芳, 石存斌, 吴淑勤. 两种碳源对草鱼养殖水质、藻类和微生物群落的影响[J]. 淡水渔业, 2015(3): 57-63,83
- [43] Akkermans S, Logist F, Van Impe JF. An interaction model for the combined effect of temperature, pH and water activity on the growth rate of *E. coli* K12[J]. Food Research International, 2018, 106: 1123-1131
- [44] Alm EW, Burke J, Hagan E. Persistence and potential growth of the fecal indicator bacteria, *Escherichia coli*, in Shoreline sand at Lake Huron[J]. Journal of Great Lakes Research, 2006, 32(2): 401-405
- [45] Byappanahalli MN, Whitman RL, Shively DA, Ting WTE, Tseng CC, Nevers MB. Seasonal persistence and population characteristics of *Escherichia coli* and *Enterococci* in deep backshore sand of two freshwater beaches[J]. Journal of Water & Health, 2006, 4(3): 313-320
- [46] Kon T, Weir SC, Howell ET, Lee H, Trevors JT. Genetic relatedness of *Escherichia coli* isolates in interstitial water from a Lake Huron (Canada) beach[M]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(6): 1961-1967
- [47] Byappanahalli MN, Whitman RL, Shively DA, Sadowsky MJ, Ishii S. Population structure, persistence, and seasonality of autochthonous *Escherichia coli* in temperate, coastal forest soil from a Great Lakes watershed[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(3): 504-513
- [48] Su J, Wang YB, Yang D, Guan DM. Research on stability of green fluorescent protein marked *Escherichia coli* in seawater[J]. Marine Environmental Science, 2009, 28(4): 395-398 (in Chinese)
苏洁, 王耀兵, 杨滴, 关道明. 绿色荧光蛋白标记的大肠杆菌海水中稳定性研究[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(4): 395-398
- [49] Casillo A, Lanzetta R, Parrilli M, Corsaro MM. Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: structures, properties, ecological roles and applications[J]. Marine Drugs, 2018, 16(2): 69
- [50] Gobet A, Böer SI, Huse SM, Van Beusekom JEE, Quince C, Sogin ML, Boetius A, Ramette A. Diversity and dynamics of rare and of resident bacterial populations in coastal sands[J]. The ISME Journal, 2012, 6(3): 542-553
- [51] Rusch A, Huettel M, Reimers CE, Taghon GL, Fuller CM. Activity and distribution of bacterial populations in Middle Atlantic Bight shelf sands[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 44(1): 89-100
- [52] Wang AM, Lin B, Sleep BE, Liss SN. The impact of biofilm growth on transport of *Escherichia coli* O157: H7 in sand[J]. Ground Water, 2011, 49(1): 20-31
- [53] Fries JS, Characklis GW, Noble RT. Attachment of fecal indicator bacteria to particles in the Neuse River Estuary, N.C.[J]. Journal of Environmental Engineering, 2006, 132(10): 1338-1345
- [54] Suter E, Juhl AR, O'Mullan GD. Particle association of *Enterococcus* and total bacteria in the lower Hudson River Estuary, USA[J]. Journal of Water Resource and Protection, 2011, 3(10): 715-725
- [55] Phillips MC, Solo-Gabriele HM, Piggot AM, Klaus JS, Zhang YF. Relationships between sand and water quality at recreational beaches[J]. Water Research, 2011, 45(20): 6763-6769
- [56] Walk ST, Alm EW, Calhoun LM, Mladonicky JM, Whittam TS. Genetic diversity and population structure of *Escherichia coli* isolated from freshwater beaches[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(9): 2274-2288
- [57] Zhao LL, Bao QH, Zhao GF. Advances in test techniques of viable but non-culturable state of bacteria[J]. Journal of Microbiology, 2016, 36(4): 96-101 (in Chinese)
赵黎黎, 包秋华, 赵国芬. 细菌 VBNC 态检测技术的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(4): 96-101
- [58] Heim S, Del Mar Lleo M, Bonato B, Guzman CA, Canepari P. The viable but nonculturable state and starvation are different stress responses of *Enterococcus faecalis*, as

- determined by proteome analysis[J]. *Journal of Bacteriology*, 2002, 184(23): 6739-6745
- [59] Pommepuy M, Butin M, Derrien A, Gourmelon M, Colwell RR, Cormier M. Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(12): 4621-4626
- [60] Zhang DD, Yu J, Shang J, Ren WH, Liu B. Effect of particle size, shape and biofilm on migration of *Enterococcus faecalis* in saturated activated carbon column[J]. *Journal of University of South China (Science and Technology)*, 2019, 33(5): 19-23 (in Chinese)
张丹丹, 余健, 尚君, 任文辉, 柳斌. 介质粒径、形状和生物膜对粪肠球菌在饱和活性炭柱中迁移的影响[J]. *南华大学学报: 自然科学版*, 2019, 33(5): 19-23
- [61] Yuan RQ, Guo W, Wang SQ, Wang P. Microbial transport in saturated porous media[J]. *Journal of Water Resources Research*, 2016, 5(4): 334-349 (in Chinese)
袁瑞强, 郭威, 王仕琴, 王鹏. 微生物在饱和多孔介质中的迁移[J]. *水资源研究*, 2016, 5(4): 334-349
- [62] Vogel LJ, Edge TA, O'Carroll DM, Solo-Gabriele HM, Kushnir CSE, Robinson CE. Evaluation of methods to sample fecal indicator bacteria in foreshore sand and pore water at freshwater beaches[J]. *Water Research*, 2017, 121: 204-212
- [63] Yamahara KM, Layton BA, Santoro AE, Boehm AB. Beach sands along the California coast are diffuse sources of fecal bacteria to coastal waters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(13): 4515-4521
- [64] Boehm AB, Shellenbarger GG, Paytan A. Groundwater discharge: potential association with fecal indicator bacteria in the surf zone[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(13): 3558-3566
- [65] Johnston KK, Dorsey JH, Saez JA. Stratification and loading of fecal indicator bacteria (FIB) in a tidally muted urban salt marsh[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, 187(3): 58
- [66] Ettema R, Mutel CF. Hans Albert Einstein: innovation and compromise in formulating sediment transport by rivers[J]. *Journal of Hydraulic Engineering*, 2004, 130(6): 477-487
- [67] Yao SY, Yuan XM, Yang XY, Deng SH. Effects of particle size and pore water velocity on transport of *Escherichia coli* in saturated porous media[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(2): 353-357 (in Chinese)
姚舜译, 袁雪梅, 杨新瑶, 邓仕槐. 粒径和流速对大肠杆菌在饱和多孔介质中迁移的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(2): 353-357
- [68] Lovins KW, Angle JS, Wiebers JL, Hill RL. Leaching of *Pseudomonas aeruginosa*, and transconjugants containing pR68.45 through unsaturated, intact soil columns[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1993, 13(2): 105-111
- [69] Russell TL, Yamahara KM, Boehm AB. Mobilization and transport of naturally occurring enterococci in beach sands subject to transient infiltration of seawater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(11): 5988-5996
- [70] Bonilla TD, Nowosielski K, Esiobu N, McCorquodale DS, Rogerson A. Species assemblages of *Enterococcus* indicate potential sources of fecal bacteria at a south Florida recreational beach[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 52(7): 807-810