DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.08.028
第24卷第8期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 8
2002年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2002

文章编号:1000-5404(2002)08-0937-04

论著

重庆市主要水厂出厂水有机提取物的致突变活性研究

舒为群[1],田怀军[1],王幼民[2],曹 佳[1] ([1]第三军医大学预防医学系环境卫生学教研室,重庆市三峡库区生态环境与人群健康研究重点实验室;重庆 400038;[2]重庆市自来水总公司水质科,重庆 400005)

提 要:目的 研究重庆市主城区范围内主要水厂出厂水有机提取物的致突变活性及其季节变化规律。方法 采用GDX-120大孔树脂,于春、夏、冬季在分别位于城区上游、城区中段、城区下游以长江、嘉陵江水源的五个水厂对出厂水进行有机物的浓缩及提取。提取物的致突变活性采用经典的Ames试验平板掺入法评估,测试菌株为TA98及TA100,同时做加与不加S9的比较。结果 五个水厂出厂水的有机提取物均有不同程度的致突变活性。其中,以嘉陵江为源水的出厂水明显大于以长江为源水的出厂水,城区内水厂出厂水明显大于城区下游水厂出厂水。移码型,特别是间接移码型致突变活性表现为夏季>春季>冬季,而碱基置换型致突变活性表现为春季>夏季>冬季。结论 本结果提示重庆市民的饮用水已具备潜在的致突变活性。需密切关注市民的相关健康状态(如肝癌等肿瘤发生)并及早提出预防措施。

关键词:出厂水;有机提取物;致突变性
中图法分类号:R123.1 文献标识码:A

Mutagenic activities of organic extracts from output water of 5 waterworks in Chongqing city

SHU Wei-qun, TIAN Huai-jun, WANG You-min, CAO Jia (Department of Environmental Hygiene, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the mutagenic activities of organic extracts from output water of the 5 main waterworks in Chongqing city and their seasonal changes. Methods The organic extracts of output water were sampled with amberlite GDX—120 resin at 5 waterworks and seasonally at winter, spring and summer respectively. The mutagenic activities were determined by Ames test with TA98 and TA100 as tester strains in presence or absence of S9 mix. Results Most organic extracts from the 5 waterworks at 3 seasons were mutagenic at different degrees. In general, the extracts with source water from Jialing River showed significantly stronger mutagenic activity than those from Yangtze River, and those from waterworks at inner city had more mutagenicity than those at downstream and out of city. The degrees of frame—shift mutagenicity, especially for indirect ones, exhibited at summer>spring>winter, and those of substitution mutagenicity at spring>summer>winter. Conclusion Pollution has led to the output water of Chongqing city to be a potential mutagenic hazard. Necessary and close concern should be paid on the health condition of Chongqing people, especially on the occurrence of related tumors, liver cancer for example.

Key words: mutagenicity; organic extract; output water

重庆市主城区拥有六百万人口,长江及嘉陵江为其主要饮用水源。在我们的前期工作中,采用GC/MS分析及Ames试验,发现该市水源长江及嘉陵江水中存在较为严重的有机物污染,源水的有机提取物显示明显的致突变活性(另文详细报道)。鉴于现有的自来水生产工艺尚无法去除源水中的许多微量有机污染物,而且常规的氯化消毒处理还会使新的具有潜在致癌性的化学物质(三卤甲烷等)产生(特别是在源水污染较为严重的情况下),因而我们特别关注与市民健康直接相关的各水厂出厂水中有机物的污染及其致突变性危害。为此,我们于2000—2001年间在平(春季)、丰(夏季)、枯(冬季)三个水期,对重庆市区分别以长江、嘉陵江为水源的五个水厂采集出厂水的有机物浓缩样品,以经典的Ames试验为手段进行了致突变性评估,研究结果如下。

1 材料与方法

1.1 采样地点及时间

在重庆市区范围内选择有代表性的5个水厂(A、B以嘉陵江为水源,C、D以长江为水源,E以两江汇合后的长江为水源),分别于2000年4月、2000年8月以及2001年1月对各水厂的出厂水同时进行有机物的浓缩及提取。

1.2 水样有机提取物制备方法

采用固相萃取技术富集水中有机物,各季节各水厂至少富集水样100 L以上。萃取剂为GDX-102(天津试剂二厂,使用前经甲醇、丙酮、二氯甲烷分别抽提8 h),过柱流速为3倍柱体积/min;水样过柱后以二氯甲烷和甲醇洗脱。洗脱液经氮气(35℃)吹干,DMSO定容至100 L/ml后用于实验。另取树脂,用洗

基金项目:国家教育部98春晖计划项目(36)、重庆市科技攻关项目(99—5772);国家自然科学基金资助重点项目(59838300)
作者简介:舒为群(1963—),女,湖南省沅陵市人,博士,副教授,主要从事环境卫生学与环境毒理学研究,发表论文33篇。电话:(023)68752294,E-mail:shuw@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2001-09-03;修回日期:2002-03-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

脱液洗脱、氮气(35 ℃)吹干, DMSO 溶解, 作为溶剂对照。

1.3 致突变试验

按照规范的 Ames 平板掺入法[1,2] 测定水样中有机提取物的致突变性。所用测试菌株为 TA98 和 TA100, 试验前性状鉴定合格后使用。经苯巴比妥及 3-甲基胆蒽联合诱导的大鼠肝匀浆(S9)作为体外代谢活化系统(鉴定合格后使用)。各水样设 10 μl/皿, 20 μl/皿, 40 μl/皿 3 个剂量组(分别相当于自来水 1 L/皿, 2 L/皿, 4 L/皿), 每个剂量设 3 个平行皿。每次试验均同时做阴性、阳性及溶剂对照。与溶剂对照相比较, 突变率 MR 值(Mutation rate, 为水样平皿的回变菌落数/溶剂对照平皿的回变菌落数)大于或等于 2, 并具有剂量-效应关系者判断为阳性结果。

2 结果与分析

Ames 试验是国内外广泛采用的评价化合物致突变性的体外短期测试系统。目前多采用 TA98、TA100 作为代表菌株进行检测, 前者反映受试物的致移码型突变能力, 后者反映受试物的致碱置换型突变能力。

表 1 显示采用 TA98 测试结果。可以发现, 移码型致突变活性除 C 厂的出厂水在冬季枯水期表现为阴性外, 各水厂在各水期均表现出不同程度的阳性。综合来看, 五个水厂的平均致突变活性表现为明显的丰水期(夏季)> 平水期(春季)> 枯水期(冬季), 特别是丰水期(夏季)的间接致突变性表现显著。这可能与夏季水温高时较多的氯化消毒副产物有关。有研究表明, 水温每生高 10 ℃, 氯化消毒副产物的生成量将增加 2 倍左右, 因而氯化消毒副产物的生成高峰一般在夏季[3]。

从全年平均的角度来看, 以嘉陵江为水源的 A 厂、B 厂以及以长江为水源、位于城区内的 D 厂的出厂水显示出较强的致突变活性, 特别是 B 厂的出厂水在 1L/皿的剂量就表现为阳性。

表 2 显示采用 TA100 菌株的测试结果。可以发现, 以嘉陵江为源水的两个水厂的出厂水在三个水期均表现出不同程度的碱基置换型致突变活性, 而以长江为源水的 C 厂及 D 厂只在春、夏季表现不同程度的阳性, 位于城区下游的 E 厂仅在春季较高剂量时(4 L/皿)显示阳性。

从全年平均的角度来看, 以嘉陵江为水源的 A 厂、B 厂明显强于以长江为水源的各水厂。从季节变化的角度来看, 五个水厂的平均碱基置换型致突变活性表现为平水期(春季)> 丰水期(夏季)> 枯水期(冬季), 提示碱基置换型致突变物质的产生与水温的关系较小, 可能与污染源的排放活跃程度及排放种类的关系更为密切一些。

图 1 在 2 L/皿的水量水平比较了各水厂的年平均致突变率 MR 值。可见五个水厂的移码型致突变率均明显高于碱基置换型, 其中以 D 厂表现尤为突出。除 D 厂的移码型突变外, 两种致突变类型均表现为嘉陵江水源厂(A、B 厂)大于长江水源厂(C、D、E 厂)。另外, 与我们前期研究所发现的源水致突变性规律(另文详细报道)相类似的是, 位于城区下游的 E 厂的出厂水其致突变活性均较上游水厂为弱, 说明出厂水的致突变活性与进厂水(即水源水)的污染程度直接相关。

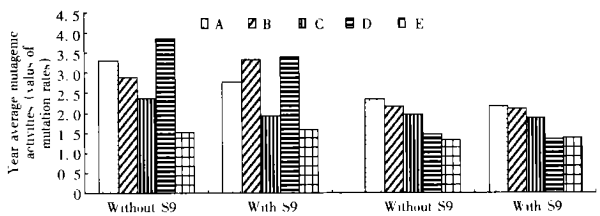


图 1 各水厂年平均致突变活性的比较(2 L/皿)

Fig 1 Compaison of annual mean mutagenic activities of organic extracts from 2 L waters of five water works (Left: frame-shift mutation; Right: Substitution mutation)

表 1 重庆市主要水厂出厂水中有机提取物的移码型致突变活性(Ames 试验 MR 平均值, TA98 菌株)[a]

Tab 1 Frame-shift mutagenic activity of organic extracts from output water of 5 waterworks in Chongqing city (Mean value of MR from 3 dishes in Ames test; TA98 strain)

Water works	Source of water	Location in the city	Water equalent (L/dish)	Spring season(4/2000)		Summer season(8/2000)		Winter season(1/2001)		Mean/year	
				−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9
A	Jialing River	Upper	1	1.76	1.46	1.89	1.20	1.76	1.27	1.80	1.31
			2	2.59 *	2.43 *	4.28 *	3.74 *	3.01 *	2.09 *	3.29 *	2.75 *
			4	4.71 *	3.64 *	5.83 *	6.61 *	5.74 *	4.41 *	5.43 *	4.89 *
B	Jialing River	Middle	1	1.24	1.03	2.94 *	4.62 *	2.16 *	1.91	2.11 *	2.52 *
			2	1.94	1.27	4.11 *	8.69 *	2.61 *	1.96	2.89 *	3.31 *
			4	2.06 *	1.66	6.94 *	12.41 *	4.21 *	3.04 *	4.40 *	5.10 *
C	Yangtze River	Upper	1	2.71 *	2.17 *	1.44	1.18	1.24	1.05	1.80	1.47
			2	4.00 *	3.30 *	1.67	1.36	1.44	1.12	2.37 *	1.93
			4	4.18 *	3.57 *	2.94 *	2.23 *	1.28	1.15	2.80 *	2.32 *
D	Yangtze River	Middle	1	2.18 *	1.69	1.44	1.44	1.18	1.02	1.60	1.38
			2	2.88 *	2.79 *	7.06 *	6.21 *	1.61	1.11	3.85 *	3.37 *
			4	5.00 *	3.36 *	11.78 *	11.81 *	2.78 *	2.06 *	6.52 *	5.74 *
E	Yangtze River	Lower	1	1.29	1.21	1.22	1.48	1.09	1.11	1.20	1.27
			2	2.06 *	1.79	1.39	1.66	1.12	1.26	1.52	1.57
			4	4.29 *	4.63 *	2.00 *	3.30 *	2.11 *	1.88	2.80 *	3.27 *
	Average of 5 woks		1	1.84	1.51	1.79	1.98	1.49	1.27	—	—
			2	2.69 *	2.32 *	3.70 *	4.33 *	1.96	1.51	—	—
			4	4.05 *	3.27 *	5.84 *	7.27 *	3.22 *	2.51 *	—	—

a: Positive controls of without S9 and with S9: mitomycin(0.5 μg/dish) and 2-aminofluorene(40 μg/dish) respectively; vehicle control: DMSO (10 μl/dish); *: Positive mutation

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 2　重庆市主要水厂出厂水中有机提取物的碱基置换型致突变活性(Ames 试验 MR 平均值, TA100 菌株)[a]

Tab 2　Substitution mutagenic activity of organic extracts from output water of 5 waterworks in Chongqing city (Mean value of MR from 3 dishes in Ames test, TA100 strain)

Water works	Source of water	Location in the city	Water equalent (L/dish)	Spring season(4/2000)		Summer season(8/2000)		Winter season(1/2001)		Mean/year	
				−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9
A	Jialing River	Upper	1	1.82	1.62	1.53	1.17	1.84	1.63	1.73	1.47
			2	2.42 *	2.84 *	2.63 *	1.96	1.97	1.67	2.34 *	2.16 *
			4	3.52 *	3.84 *	3.68 *	2.83 *	3.23 *	3.13 *	3.48 *	3.27 *
B	Jialing River	Middle	1	1.29	1.46	1.81	1.62	2.26 *	2.00 *	1.79	1.69
			2	1.54	2.06 *	2.33 *	2.00 *	2.68 *	2.28 *	2.18 *	2.11 *
			4	1.71	2.49 *	3.16 *	2.50 *	3.80 *	3.25 *	2.89 *	2.75 *
C	Yangtze River	Upper	1	2.00 *	1.78	1.46	1.09	0.98	1.11	1.48	1.33
			2	2.86 *	3.10 *	1.82	1.31	1.23	1.18	1.97	1.86
			4	3.64 *	3.60 *	2.40 *	2.14 *	1.14	1.18	2.39 *	2.31 *
D	Yangtze River	Middle	1	1.49	1.51	1.33	1.40	1.04	1.18	1.29	1.36
			2	1.69	1.59	1.53	1.12	1.20	1.26	1.47	1.32
			4	4.28 *	4.41 *	2.30 *	1.95	1.42	1.36	2.67 *	2.57 *
E	Yangtze River	Lower	1	1.24	1.10	1.35	1.08	1.04	1.05	1.21	1.08
			2	1.32	1.50	1.33	1.45	1.24	1.16	1.30	1.37
			4	2.40 *	2.77 *	1.67	1.82	1.43	1.32	1.83	1.97
	Average of 5 works		1	1.57	1.49	1.50	1.27	1.43	1.39	—	—
			2	1.97	2.22 *	1.93	1.57	1.66	1.51	—	—
			4	3.11 *	3.42 *	2.64 *	2.25 *	2.20 *	2.05 *	—	—

a: Positive controls of without S9 and with S9: mitomycin(0.5μg/dish) and 2-aminofluorene(40μg/dish) respectively; vehicle control: DMSO (10μl/dish); *: Positive mutation

图 2 在 2L/皿的水量水平比较了五水厂平均致突变率 MR 值的季节性改变。可以发现, 移码型突变表现为丰水期> 平水期> 枯水期; 而碱基置换型突变表现为平水期> 丰水期> 枯水期。

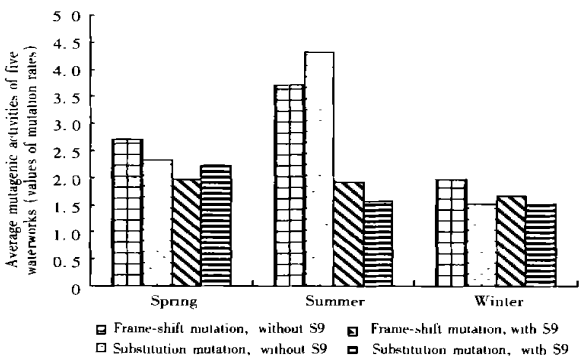


图 2　五个水厂平均致突变活性的季节改变(在 2L/皿水平的比较)

Fig 2　Seasonal changes of five water works average mutagenic activites from 2 L water

3　讨论

饮用水中的有机物污染是目前令人极为关注的环境问题, 其远期健康危害(致突变、致癌、干扰内分泌等)是近年来国内外学者关注的热点。对于水体有机物污染的潜在致癌效应评估, 一般都采用体外短期生物测试系统进行。Ames 试验是以成熟的基因突变理论以及"绝大多数致癌物都是致突变物"的学说为理论依据, 通过观察受试物对基因的诱变作用来推测其对人类的致癌性危害的。朱惠刚[4]以黄浦江水为对象, 综合比较了国内外常用的 6 种短期体外生物学检测系统, 包括 Ames 试验, UDS 试验, SOS/umu 试验, SCE 试验, 微核试验和细胞转化试验, 分析后认为 Ames 试验方法成熟、结果可靠、操作简便, 而且其阳性值与人群肿瘤发病率梯度之间相符合, 因而推选其为评价水体有机物潜在致癌性危害的首选试验。这是本研究采用 Ames 试验作为评价手段的依据所在。

朱惠刚等[5]的研究表明黄浦江水源水及自来水除个别采样点的致突变性为阴性外, 大多数为阳性及可疑阳性, 而饮用黄浦江上、中、下游水的居民中男性胃癌、肝癌标化死亡率呈梯度变化, 并与饮用水质的致突变性基本相符; 国内另一项研究表明, 太湖、巢湖、淀山湖水的有机提取物可不同程度地使 SHE 细胞发生典型恶性转化, 同时还能活化该细胞 ras 癌基因蛋白的表达[6]。

在本研究中我们发现, 重庆市居民的饮水已具备明显的致突变活性, 这提示我们必须密切关注重庆市居民肝癌等消化系统, 甚至血液、泌尿等相关系统肿瘤发生的问题。据内部资料, 70 年代初, 重庆城区的肝癌死亡率就位居全国八大城市的第二位, 仅居上海之后。近年来, 上海等大城市的肝癌死亡率已有较大幅度下降, 而重庆市仍呈上升趋势, 其死亡率目前仍明显高于全国城市水平(1993 至 1995 年间重庆城区肝癌死亡率为 29.61/十万, 而全国城市肝癌死亡率为 20.03/十万)。孙安龙等对重庆市原发性肝癌的危险因素进行研究后发现, 乙肝病毒感染、饮水类型以及肝胆器官疾病史是相关程度最大的危险因素, 其相对危险度分别为 15.579, 8.774, 4.557[7]。结合我们的研究结果,

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

我们认为饮水污染可能在重庆市目前居高不下的肝癌发生中起着重要作用。

重庆市是世界上人口和面积最大的城市，但即使在中国，也还是一个经济、社会发展相当滞后的城市。据中国社科院等单位的评估表明，重庆市在大陆 34 个大城市中社会发展综合水平排名在倒数第三位。国家目前正在实施西部大开发战略，重庆市在资源不足、环境不良、经济文化落后的重重困难下面，要实现自身发展，并带动西南和长江上游地区发展的目标，人民群众的健康水平将是一个起决定作用的因素。仅仅以医疗费用估计，即使仅按重庆市城区目前的肝癌死亡率水平推算，重庆市每年新发病例约 9 000 例，保守地按每例医疗费用 3 万元计算，仅肝癌发生的直接经济损失就达每年 2.7 亿元。因此，加大水环境保护的力度，密切关注人群与饮水相关的肿瘤发生的趋势，并尽早采取切实有效的预防措施，是各级政府及卫生、科研部门的必须高度重视的问题。

参考文献：

[1] Maron D M, Ames B N. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test[J]. Mutation Res, 1983, 113(1): 173－125.
[2] 袁伯俊，王治乔. 新药临床前安全性评价与实践[M]. 北京：军事医学科学出版社，1997. 78－88
[3] 范 春，王贤珍、王 强，主编. 环境医学展望[M]. 哈尔滨：黑龙江科学技术出版社，1995. 91－93.
[4] 朱惠刚. 水中有机致突变物综合评价指标探讨[J]. 海环境科，1995, 314(10): 44－46.
[5] 朱惠刚. 环境与健康是人类永恒的主题[J]. 环境与健康杂志，1999, 16(1): 1－3.
[6] 王红兵. 水体污染物诱导的叙利亚金黄地鼠胚胎转化细胞中 P21 蛋白的表达[J]. 中华预防医学杂志，1996, 30(4): 202－204.
[7] 孙安龙、贾庆良、周燕荣 等. 重庆市原发性肝癌的危险因素[J]. 中国肿瘤，2000, 9(3): 123－124.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)08-0940-01

治疗重度烧伤合并吸入性损伤及气胸 1 例

Treatment of a case of severe burn with inhalation injury and pneumothorax

蔡少甫，郑庆亦，陈锦河，阮 兢 （解放军第 175 医院烧伤科，漳州 363000）

病例，男，22 岁，火焰烧伤全身多处，逃离现场时不慎从 3 m 高跌下致胸闷气促。伤后 1 h 开始静脉补液，2 h 后转送入院。入院时病人意识清楚，体温 37 ℃，脉搏 140 次/min，心音遥远，呼吸急促，36 次/min，血压 92/64 mmHg，头面部、躯干及四肢创面焦黄，大部分呈皮革样，双手指焦黑干枯，鼻腔及口腔有黑色炭末粘附。诉咽干痛，有刺激性干咳，声音嘶哑，右肺扣诊呈鼓音，左肺清音。双肺（主要为左肺）可闻及散在罗音和哮鸣音，右肺呼吸音减弱。胸部 X 线检查示右侧气胸，右肺压缩 60%，右上肺肺不张。血气分析示：PaO_2 57 mmHg，$PaCO_2$ 34.5 mmHg，pH 7.25，BE-11.7 mmol/L。诊断为：①烧伤 80%，Ⅲ度 62%；②创伤性气胸；③吸入性损伤并右上肺节段性肺不张。入院后即行胸腔闭式引流，气管切开，高浓度给氧（吸入气氧浓度 60%），气促获改善，StO_2 92%。静脉补液第一个 24 h 为 12 750 ml，第二个 24 h 9760 ml，晶、胶体比例 1∶0.9。休克期尿量 55～90 ml/h，血氧分压持续偏低，PaO_2 53.6～63.4 mmHg。伤后 1、3 d 行纤维支气管镜检查，见气管及右支气管粘膜充血、水肿及小片状粘膜脱落，有黑尘粘附，经纤维支气管镜清除气道分泌物、炭末及痰块，并进行灌洗，促进咯咳以利于肺复张。伤后 4 d 复查胸片见右上肺已复张，PaO_2 上升至 77.5～87.9 mmHg。伤后 7d 病情较稳定，行双手、双下肢切痂，双手用大张中厚皮移植，双下肢行自体微粒皮移植、大张异体皮覆盖。患者伤后 16 d 突然出现大量咯血，纤维支气管镜检查见气管下段及右支气管粘膜糜烂、溃疡并出血，有散在的坏死白色伪膜形成。经纤维支气管镜吸出积血后，镜下滴入去甲肾上腺素 2 mg，气管内缓慢滴入凝血酶 500 U 及金因肽 3 ml，1 次/4 h，伤后 26 d 纤维支气管镜检查见粘膜溃疡已愈合。伤后 45 d 创面基本封闭，全身残余创面不足 2%。伤后 53 d 突然出现寒战、高热，体温 40.5 ℃，血培养为肺炎克雷伯杆菌，联用复达欣 6 g/d 和丁胺卡那霉素 400 mg/d 治疗，连续治疗 3d 血培养转阴，6 d 后停用抗生素。伤后 60 d 逐渐出现厌油、腹胀和黄疸等症状，总胆红素达 194.1 μmol/L，直接胆红素 72.4 μmol/L，ALT 480.3 U/L，B 超显示肝脾轻度肿大，诊断为戊型肝炎。给予静滴思美泰、肝得健、肝利欣等治疗。伤后 71 d 再次出现肺炎克雷伯杆菌脓毒血症，给予泰能，地塞米松，口服金双歧活菌片。伤后 75 d 又出现表皮葡萄球菌脓毒血症，根据药敏试验结果，给予静滴阿莫西林-克拉维酸钾，3 d 后血和创面培养均为阴性，感染症状得到控制。伤后 95 d 肝功能恢复正常，停止保肝治疗。伤后 115 d 痊愈出院。

讨论

①纤维支气管镜对吸入性损伤的诊断和治疗均有重要作用。本例入院后立即行气管切开和胸腔闭式引流。伤后 1d 和 3d 纤维支气管镜检查不仅明确了吸入性损伤的诊断、损伤范围和程度，而且侧重对右支气管进行灌洗和吸引，有效地清除气管分泌物，改善通气，促进了肺复张，明显改善了患者的低氧血症，避免了肺部感染。伤后 16 d 咯血时，纤支镜检查不仅明确了出血部位、病灶性质，而且能有效地进行局部止血治疗，在镜

（下转 943 页）

作者简介：蔡少甫（1964－），男，福建省漳浦县人，副主任医师，主要从事烧伤临床方面的研究，发表论文 13 篇。电话：(0596)2925370
收稿日期：2002-05-08；修回日期：2002-07-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net