

研究简讯

用 Ames 和微核试验对医院污水致突变性的评价

杨立群¹⁾ 高泽宣²⁾ 安飞云²⁾ 黄昕¹⁾

(1) 湖南医科大学湘雅医院, 长沙 410008 (2) 湖南医科大学环境医学研究室)

医院污水经次氯酸钠消毒处理后, 卤代烃类化合物含量显著增高, 主要成份为氯仿、四氯化碳等, 文献报导, 这些副产物均具有致突变性和致癌性^[1-3]. 排入水体后, 可能对人体健康造成潜在性影响, 为此笔者选用 Ames 和微核试验以测定消毒处理前、后的医院污水对基因及靶细胞有无致突变作用, 用来评价其有无潜在的致突变、致癌的危险性, 从而为制定污水排放标准提供毒理学依据.

1 材料与方法

1.1 主要材料

XAD-2大孔树脂系 SERNA 公司生产, 粒度为0.3-1.0mm.

鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型突变菌株 TA98、TA100和TA1537, 由中国预防医学科学院提供.

6-磷酸葡萄糖(G-6-P)及甲基亚硝基胍(MNNG)是 Sigma 公司产品.

辅酶 (NADP) 是上海丽珠东风生物技术有限公司产品.

D-生物素是日本进口、上海化学试剂公司分装提供.

昆明种(LACA)小白鼠由湖南医科大学实验动物中心提供.

1.2 方法

(1) 样品采集 选择湖南医科大学附属二院进行现场采样, 在医院污水处理装置正常运转的情况下, 用塑料壶分别采集上午9时、下午3时处理前、后的混合水样5000ml, 送回实验室处理.

(2) 样品处理 将经过蒸馏水浸泡、丙酮、乙醚、甲醇提取过的 XAD-2树脂装入内径0.7cm、高10cm的玻璃层析柱, 树脂高度约5cm. 处理前、后各5000ml 水样以1-2ml/min 流速过柱, 然后用重蒸馏的丙酮100ml 进行洗脱, 洗脱液收集于蒸发皿中水浴挥干, 浓缩物加

入25%的无菌二甲亚砷(DMSO) 稀释定容至5ml (即1ml=1L 原水样).

(3) Ames 试验 将各菌种接种于营养肉汤中, 在恒温培养箱中振荡培养增菌, 菌种鉴定包括组氨酸需要情况、rfa 及 vrB 突变、R 因子鉴定, 自发回变和诱发突变均符合要求. 方法采用标准平板掺入法^[4,5], 实验在加 S9 和不加 S9 混合液条件下进行, 重复2次试验, 不同菌株设3个平行皿. 测试物浓度分为高、中、低3个组, 分别为相当于原污水样100ml/皿、10ml/皿及1ml/皿, 阴性对照25%的 DMSO 0.1ml/皿, 阳性对照甲基亚硝基胍(MNNG) 0.5mg/皿. 37℃ 培养48h 计数回变菌落数.

S9的制备: 体重200g 的健康雄性大鼠, 用苯巴比妥钠(浓度为15mg/ml, 剂量为75mg/kg) 每d 1次腹腔注射, 诱导5d 后取出肝脏, 称重后按每 g 肝重加入0.15mol/l KCl 溶液3ml, 在匀浆器上以600-1000r/min 制成匀浆, 以上步骤全部在冰浴中进行. 高速冷冻离心(12000r/min) 10min, 取上清液 S9配制成 S9混合液.

(4) 微核试验 健康昆明小白鼠80只, 体重20±2g, 7-10周龄, 雌雄各半, 随机分成8组. 处理前、后的水样设高、中、低3个剂量组, 相当于原污水样10ml/10g 体重, 5ml/10g 体重, 2.5ml/10g 体重. 阴性对照为含25%二甲亚砷的生理盐水0.2ml/10g 体重, 阳性对照环磷酰胺1mg/10g 体重. 各组均采用腹腔注射染毒, 每d 1次, 第5d 处死小鼠, 取股骨骨髓按常规推片^[5], 吉姆萨染色, 油镜观察, 计数1000个嗜多染红细胞(PCE), 计算微核千分率.

(5) 全部数据输入计算机 dBase 数据库, 并经过 SPSS/PC 软件进行统计处理.

2 结果

Ames 结果可看出(表1), 无论加或不加 S9, 阳性

对照组对3菌株诱发回变菌落数明显高于阴性对照组, 处理后高剂量组对 TA100和 TA1537两种菌株诱发回变菌落高于阴性对照组的2倍, 有显著性差异($P < 0.05$), 而中、低剂量组没有显著性差异, 说明存在剂量

反应关系. 处理前高剂量组与阴性对照组比较有显著性($P < 0.05$). 另外加入S9混合液条件下, 处理前、后高剂量组对TA98诱发回变菌落数有显著性差异($P < 0.05$).

表1 医院污水处理前、后的 Ames 试验结果

组别	TA98		TA 100		TA 1537	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9	- S9	+ S9
阴性对照	39.0±11.3	28.5±7.8	102.5±10.6	125.0±7.1	2.0±1.4	10.5±7.8
阳性对照	107.5±3.5	115.0±7.1	235.0±7.1	265.0±21.2	47.5±17.7	240.0±84.9
处100ml/皿	42.5±3.5	57.5±3.5	155.0±35.4	125.0±7.1	0.0±0	0.0±0
理10ml/皿	15.5±3.5	17.5±3.5	90.0±42.4	135.0±49.5	1.5±2.1	1.0±0
前1ml/皿	14.0±2.8	23.0±9.9	75.0±7.1	40.0±14.1	0±0	0±0
处100ml/皿	57.5±3.5	82.5±3.5	325.0±7.1	350.0±70.7	16.0±1.4	20.0±5.7
理10ml/皿	55.0±7.1	27.5±10.6	85.0±7.1	130.0±28.3	1.5±2.1	0.5±0.7
后1ml/皿	0±0	3.0±4.2	5.0±7.1	50.0±14.1	0±0	0±0

微核试验结果(表2)可看出: 水样处理前仅高剂量组平均微核率高于阴性对照组, 处理后高、中、低剂量组平均微核率均高于阴性对照组, 经统计学检验差异有显著性, 而且随剂量加大, 微核率上升.

表2 医院污水处理前、后的微核试验结果

组别	动物数	MN 率/%($\bar{x} \pm s$)	与阴性比较 t 值 组间比较 t 值	
阴性对照	10	2.00±0.47		
阳性对照	10	18.00±6.78	7.01 ²⁾	
处100ml/皿	10	7.00±4.22	2.46 ¹⁾	2.23 ¹⁾
理10ml/皿	10	3.90±1.29	1.68	1.70
前1ml/皿	10	3.00±1.05	1.00	
处100ml/皿	10	14.50±4.39	3.42 ²⁾	4.66 ²⁾
理10ml/皿	10	7.00±2.58	2.88 ²⁾	2.95 ²⁾
后1ml/皿	10	4.40±1.07	2.13 ¹⁾	

1) $P < 0.05$ 2) $P < 0.01$

3 讨论

医院污水中含有大量有机物质, 消毒处理后卤代烃类化合物含量显著增加, 这些氯化副产物的 Ames 试验阳性, 表明它们可使鼠伤寒沙门氏菌组氨酸营养缺陷型突变菌株回复突变成野生型, 这种体外诱变试验从基因突变的角度确证了氯化副产物改变细胞内遗传物质的能力. 考虑到基因突变部位的不同, 选用不同菌株进行试验: TA98、TA1537检测移码型突变, TA100检测碱基置换型突变. 结果表明水样浓缩物以

直接致突变作用为主. 而处理前、后高剂量组加S9后TA98显著高于对照组, 说明存在需经活化的间接致突变物. 处理后污水微核试验阳性表明水样浓缩物是一种染色体断裂剂, 对染色体具有致畸变作用, 有资料表明, 外来化学物诱导微核形成的能力与造成染色体畸变的能力相关^[5]. 这种体内诱变试验从染色体畸变角度论证了氯化副产物的致突变作用. 而处理前高剂量组也具有染色体畸变作用, 这可能与含有间接致突变物有关.

本文检测了基因突变和染色体畸变2种遗传学终点, 较全面地反映了消毒处理后的医院排放的污水中仍具有致突变物. 为了避免其给人类健康带来危害, 在对医院污水氧化消毒的同时, 还应采取相应的其它治理措施, 如颗粒活性炭吸附法^[6]等, 从而将其危害程度降至最低.

参 考 文 献

1 Morris R. Am, J, Public health, 1992, **82**(7): 955

2 曹玉鑫等. 氯消毒后饮用水的致突变试验研究. 环境与健康杂志, 1989, **6**(3): 15

3 Vartiainen T et al. Mut. Res., 1986, **169**: 29

4 毛德寿等. 环境生化毒理学. 沈阳: 辽宁大学出版社, 1986: 307

5 王翔朴等. 致突和致癌性检测卫生毒理学. 长沙: 湖南教育出版社, 1995: 99

6 王凯华等. 应用GAC去除饮水致突变性的研究. 中华预防医学杂志, 1991, **25**(6): 337