

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2020.20.016

饮用水系统自由生活阿米巴微生物风险及控制

胡宇星, 赵建夫, 王虹

(同济大学环境科学与工程学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092)

摘要: 自由生活阿米巴(Free-living amoebae, FLA)微生物近年来在饮用水系统中频繁被检出。FLA抗消毒能力较强,易在饮用水管网中定殖。除了自身致病性外,FLA可作为多种条件致病菌的宿主,给用户健康造成威胁。综述了饮用水系统中FLA的传播风险、FLA与抗阿米巴微生物(Amoeba-resistant microorganism, ARM)的相互关系及其分布特征,探讨了饮用水系统环境条件对FLA的影响及物理、化学和生物手段对其的控制措施,为饮用水系统中FLA监测及控制提供参考。

关键词: 自由生活阿米巴; 饮用水供水系统; 微生物安全

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2020)20-0095-06

Free-living Amoebae in Drinking Water Distribution Systems: Health Risks and Control Strategies

HU Yu-xing, ZHAO Jian-fu, WANG Hong

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Free-living amoebae (FLA) has been frequently detected in drinking water distribution systems. FLA has strong anti-disinfection ability and can easily colonize in drinking water systems. Besides the pathogenicity some species have, FLA can serve as hosts for a variety of bacterial opportunistic pathogens, posing severe health risks to drinking water consumers. This work reviewed the FLA potential health risks, interaction between amoeba-resistant microorganisms (ARM) and distribution characteristics in drinking water distribution systems. The influence of the environmental conditions of drinking water distribution system on FLA and its control measures by physical, chemical and biological methods were also discussed. This review provides insights to FLA monitoring and control in drinking water supply systems.

Key words: free-living amoebae; drinking water distribution systems; microbial safety

高质、安全的饮用水与公众健康密不可分。据WHO统计,绝大部分和饮用水相关的健康问题是由微生物造成的,微生物控制在所有饮用水控制指标

中具有较高的优先性^[1]。全球每年因饮用水微生物污染导致死亡人数超过48.5万人^[2],尽管大多数发生在无法获得安全饮用水的地区,但经过处理的

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51878468、51508397); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07201001); 德房家(中国)管道系统有限公司自主研究课题

通信作者: 王虹 E-mail: hongwang@tongji.edu.cn

饮用水仍是许多疾病传播的重要媒介。

自由生活阿米巴(Free-living amoebae, FLA)是自然环境中自由生活阿米巴类的总称。FLA为单细胞原生动物,种类繁多,广泛存在于土壤及各类自然水体中。FLA在世界各地的饮用水系统中均被检出,其致死病例被多次报道,呈现出尚未量化的健康风险。目前,各国生活饮用水卫生标准虽对粪源性污染指标进行了严格控制,但FLA作为非粪源性致病微生物,仅*Acanthamoeba*和*Naegleria fowleri*被纳入WHO《饮用水水质准则》微生物指标。我国现行的《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006)亦未涉及FLA污染控制,其在饮用水系统中的安全风险往往被忽视。

1 FLA致病性及介饮用水传播风险

FLA主要以滋养体和包囊两种形态存在于自然环境中。FLA偏好温暖水域,其中嗜热性最强的*Naegleria*(耐格里属阿米巴)甚至能在45℃的环境中增殖。环境适宜时,FLA为滋养体形态,此时摄食、增殖等生命活动活跃,致病性较强。在不利环境中,FLA从滋养体转变为包囊形态,此时机体代谢缓慢,双层囊壁使其对不利环境具有较强抗性,无致病性。部分FLA在滋养体形态时,可作为人类病原体,导致致命的机体损伤。

目前已知对人和动物具有感染能力的阿米巴属共4个,包括*Acanthamoeba*(棘阿米巴)、*Naegleria*、*Balamuthia*和*Sappinia*,前三者在饮用水系统中频繁被检出。与粪源性病原体介口传播途径不同,FLA主要通过皮肤黏膜或呼吸系统感染人体。*Acanthamoeba*和*Balamuthia*主要是通过接触皮肤黏膜、伤口、眼睛引发感染,*Naegleria fowleri*通常是被吸入鼻腔后引发脑部感染,因此淋浴时呛水或吸入含有病原的水雾,以及使用被污染的饮用水洗鼻存在较高的感染风险。

饮用水中FLA致病病例被大量报道。隐形眼镜佩戴者中棘阿米巴角膜炎发病率最高,每一万名佩戴者中就有0.2~2人患此病,且该比例一直在增加^[3]。马德里超过85%的棘阿米巴角膜炎患者为隐形眼镜配戴者,可能与当地饮用水系统中较高的*Acanthamoeba*污染水平有关^[4]。我国棘阿米巴角膜炎近年来也呈现出明显增加的趋势,自来水清洗隐形眼镜镜片可能是棘阿米巴角膜炎感染增加的最大影响因素^[5]。*Balamuthia*易感染免疫能力弱的儿

童,其中*B. mandrillaris*菌株具有较强的致病性,主要导致肉芽肿性阿米巴脑膜炎、皮肤病变和鼻窦感染。西雅图一名妇女因使用自来水洗鼻感染*B. mandrillaris*后导致肉芽肿型脑炎(GAE)死亡^[6]。*N. fowleri*可通过鼻腔黏膜上皮细胞,感染中枢神经系统,对脑组织造成损伤,死亡率极高。虽然没有集中暴发的报道,但因饮用水系统*N. fowleri*污染导致原发性阿米巴脑膜脑炎(PAM)却常有发生。据估计,每年仅在美国因PAM死亡的人数就有16人^[7]。2003年,美国两名健康儿童因PAM死亡,从其浴缸过滤器中检测出了*N. fowleri*^[8]。

除了FLA本身的致病性外,部分与FLA存在寄生或共生关系的抗阿米巴微生物(ARM)也有很强的感染性和致病性,如嗜肺军团菌,这进一步增加了饮用水系统中FLA对公众健康的潜在风险。因此,在进行准确的风险评估之前,迫切需要大量研究以评估饮用水系统中存在的FLA和致病性ARM对人体健康的影响。

2 FLA与ARM的相互作用

在饮用水系统中FLA以细菌为食,其对细菌的捕食作用对生态系统中细菌数量的控制以及营养循环起着重要的作用^[9]。但是部分细菌能够避免被FLA溶酶体消化,表现出胞内生长活性,与FLA呈现出共生或寄生关系。这类通过长期选择和进化能在FLA胞内共生或寄生的细菌统称为ARM。

ARM被FLA捕食后,可以出现3种情况:①ARM进入FLA胞内后具有一定活性但不增殖;②ARM进入FLA胞内后以FLA提供的养料进行分裂和增殖,且能随着FLA的分裂而进入其子代中,即为阿米巴共生胞内菌;③ARM在FLA胞内生长繁殖,一定情况下使FLA裂解并从胞内释放。由于FLA捕食机制和哺乳动物巨噬细胞呈现出许多相似之处,ARM往往能躲避人类巨噬细胞的吞噬,表现出较强致病性。因此,FLA被称为微生物界的“特洛伊木马”。

ARM种类很多,包括军团菌、铜绿假单胞菌、鸟分枝杆菌、李斯特菌、麻风杆菌、霍乱弧菌等。国内外大量研究表明,饮用水系统中FLA和ARM有密切关系^[9-11]。其中最受关注的军团菌可通过饮用水系统传播,且饮用水系统中的FLA和生物膜被认为是军团菌快速增长不可或缺的因素。FLA被嗜肺军团菌感染后释放出3~10 μm的囊泡即可使人患

军团病,且共生后提高了军团菌的感染能力^[12]。巴黎自来水管网中87.6%的FLA中都携带着大量非结核分枝杆菌,说明FLA是非结核分枝杆菌的重要宿主^[13]。非结核分枝杆菌不仅能抵抗FLA吞噬酸化作用,还能在其体内保持较高的复制效率,借助FLA胞囊结构提高了其在不利环境中的生存能力^[13]。此外,从医院热水管道中分离出*Vermamoeba*与假单胞杆菌呈现出较强的相关性。这些都说明饮用水管道中FLA能提高ARM的生存能力,增加了饮用水供水管网的微生物安全风险。

3 FLA在饮用水系统中的分布特征

FLA几乎存在于所有的地表水源中,部分地下水源中也检测到大量FLA,因此,自来水厂各处理单元中FLA普遍存在不足为奇。饮用水处理前端工艺中FLA分布甚为密集,主要包括*Acanthamoeba*、*Naegleria*等。水处理主要通过颗粒物截留同步降低FLA浓度,其中絮凝、沉淀、过滤对FLA的去除效果明显。然而,不同水处理工艺流程对FLA的去除效果差异较大。英格兰部分水厂出厂水未检出*Acanthamoeba*,认为水处理工艺可以有效去除*Acanthamoeba*。但无锡某饮用水系统出厂水和末端均发现大量*Acanthamoeba*,认为饮用水处理工艺并不能有效去除FLA^[14]。这种差异可能是原水水质、气候因素和处理工艺等不同所致。此外,过滤作为FLA截留的重要屏障,不同滤料对FLA去除效果存在较大差异。有研究发现,无烟煤生物滤池无FLA检出,可能与该滤池微生物群落结构单一有关;活性炭生物滤池由于能迅速消除余氯,具有更大生物量和生物活性,FLA的丰度较高^[15]。虽然水处理工艺可以有效减少FLA,但由于FLA具有较强的抗消毒剂能力,即使是运行良好的全流程处理工艺并非是截留FLA的绝对屏障。

FLA可以在供水管网中定殖再生长,在国内外配水系统均有检出^[11,14]。德国3座自来水厂出水中FLA检出率较低,然而,FLA种类和数量随着配水管网距离的增加而增长。其他研究亦证实,管网末端中FLA的浓度和生物多样性相较于主管网显著升高,可能与管网末端的比表面积更大,且余氯浓度更低有关^[16]。美国市政饮用水储罐沉积物中检测到大量*Acanthamoeba*,说明沉积物也是FLA的重要栖息地^[10]。FLA检出率与蓄水池沉积物中铝和钾的浓度呈显著正相关,说明管道材料的腐蚀可提

高金属离子含量,直接或间接地促进FLA生长^[17]。高层建筑的二次供水系统也是FLA的生长温床,*Acanthamoeba*和*V. vermiformis*在水箱中的检出率较市政管网呈大幅度提高^[18]。此外,由于部分FLA具有嗜热特性,即使在热水管道中也常常被检测到^[9]。综上,FLA在配水至用户龙头阶段具有较高的再生长能力,供水管网管道及储水系统中沉积物、生物膜、水流停滞周期、环境条件等因素均能对其产生影响。

4 饮用水系统环境条件对FLA的影响

不同饮用水系统中FLA在群落结构和数量上表现出较大的差异。温度、pH值、有机物、消毒剂、地理气候条件,甚至微生物群落结构等生物或非生物因素均有可能对其产生影响^[16]。

FLA的分布与温度有明显关系。对德国部分供水管网的研究表明,管网中FLA夏秋两季FLA浓度最高且种类最多。美国中北部某饮用水系统中春季样品的FLA以最适温度较低的*Acanthamoeba*为主,秋季则主要检出可在较高温度中存活的*Vahlkampfia*和*Naegleria*^[19]。可见,温度是控制FLA种群丰度和组成的一个重要变量。

消毒剂种类和剂量也是影响饮用水系统FLA的重要因素。不同消毒剂的作用方式也不同,氯消毒能使*Acanthamoeba castellanii*伪足收缩形态改变,二氧化氯使其细胞质空泡化,而氯胺会使其表面光滑致密,但消毒效果较前两者弱。二氧化氯对*Acanthamoeba*和*Hartmannella*滋养体及胞囊灭活的浓时积($Ct_{99\%}$)为 $1\text{ mg}\cdot\text{min}/\text{L}$,远小于氯和氯胺^[20]。但对中试管网的消毒实验发现,二氧化氯对FLA的控制效果不明显,且一旦停止二氧化氯处理,原本灭活的军团菌能在FLA的帮助下迅速在管网中再次定殖。这可能是由于二氧化氯在管道中存在衰减,且水中TOC等物质也会削弱二氧化氯对FLA的控制作用。

有研究认为管网中FLA密度与水体中溶解有机物水平呈正相关,说明饮用水中存在的有机物可能是影响FLA种群的一个潜在因素。一方面,水中的有机物可以加速消毒剂的衰减,有助于FLA抵抗消毒剂的作用^[21];另一方面,饮用水中消毒剂的存在和较低的有机物水平抑制了大量微生物生长,使得部分FLA能在低竞争情况下充分利用微量有机物,如*Mycobacterium avium*可在AOC低至 $50\text{ }\mu\text{g}/\text{L}$

的水中生长^[22]。因此,降低有机物浓度可能并不能有效控制管网中 FLA,这或许能解释部分研究中 FLA 密度与有机物浓度的较低相关性^[11]。

管道材料对 FLA 也有一定影响。有研究表明,在消毒剂浓度降低时,管材对 FLA 的影响趋于明显,其中,铁管有利于 FLA 的再生长,其次是水泥管道和 PVC 管。还有研究在铜管中的生物膜中发现了相较于 UPVC 管更高的 FLA 和 ARM 浓度^[23],可能与金属管道被腐蚀后释放的金属元素有关^[17]。据报道,铝、锌、锰、铁等微量元素浓度在 20 mg/L 内能促进 FLA 生长;而 20 mg/L 铜离子则对 *N. fowleri* 和 *Acanthamoeba* spp. 具有抑制作用^[24]。目前,金属离子对 FLA 的作用机理依然不够明确,亟待进一步研究。

饮用水系统水源也被认为是影响 FLA 在供水管网中形成的因素之一。以地表水为水源的处理工艺出水中 FLA 的检出率和浓度均高于地下水源,而 *Echinamoeba* 只在以地下水为水源的管网中呈现出较高的丰度^[16]。这可能与不同水源的化学组分存在关联,例如,地表水的有机物含量一般较地下水高,有机物可促进管网生物膜生长,加速余氯降解,为 FLA 在饮用水系统的定殖提供有利条件。

饮用水系统中微生物群落结构对 FLA 也有显著影响。即使大量证据表明 FLA 的群落和许多外部环境因素有关,但无论是实验室研究还是实际管网监测发现:理化性质(如温度和消毒剂)没有发生明显变化时,FLA 的种群依然发生了改变,因此推测生物因子可能是影响 FLA 群落变化不可忽略的要素。管网生态系统中 *N. fowleri* 可能仅以某些特定细菌为食,细菌群落结构可影响其定殖^[25]。同时,*N. fowleri* 群落和特定细菌及真核生物群落丰度也存在一定相关性,然而,目前仍无法确定是否存在因果关系或是环境选择压力下的共同生长^[26]。

5 饮用水系统 FLA 的控制

饮用水处理工艺可通过降低浊度、ATP 和有机物浓度来控制出水中 FLA 数量,降低其在供水管网中的再生长潜力。过滤可以通过截留颗粒物有效去除水体中 FLA,低浊度(<0.5 NTU)和低 ATP(<1 ng/L)出水能限制 FLA 生长。

在供水管网中,将余氯浓度维持在 1 mg/L 时可以有效去除水体和生物膜中已有的 *N. fowleri*,并减少其在管网中再次定殖的几率^[27]。在用户端,可使

用铜-银离子复合体系增强游离氯的作用,提高对 *N. fowleri* 的去除能力。 O_3/Cl_2 协同消毒也有较好的灭活效果,可有效控制管道生物膜中的 FLA^[28]。热水系统中 15 mg/L 氯消毒 10 min 或 60 °C 加热 30 min 可将 *V. vermiformis* 数量降低 6lg^[29]。但部分研究表明,即使在 80 °C 下,100 mg/L 氯消毒 10 min 后,*Acanthamoeba* 胞囊依然具有活性,说明超强度的传统消毒方法也不足以长期控制饮用水系统中的 FLA。

由于 FLA 主要存在于生物膜中,因此应该尽可能限制饮用水系统管道和水箱表面生物膜的形成,例如,优化冲洗程序以及储水设施的管理能更好地控制 FLA。此外,Wang 等^[30]提出在管网中引入“益生菌”,使其成为优势种或抑制用户端条件致病菌生长和定殖的假说受到了学界的广泛关注,但该法的具体实践仍需基于深入调查环境因子对特定“健康”微生物群落的富集和筛选效果;其潜在健康风险,尤其是对免疫功能低下人群的影响还有待进一步评估。

6 结语

FLA 广泛存在于饮用水系统中,鉴于 FLA 的致病性、与 ARM 复杂的生态关系及对人类独特的感染方式,其在饮用水系统中的微生物风险值得关注。尤其是在当前人口结构老年化、敏感人群增加的社会背景下,对我国饮用水系统 FLA 进行监测,获取 FLA 分布的基线数据,并在此基础上对 FLA 介饮用水传播风险进行准确评估并进一步控制,降低 FLA 及 ARM 介饮用水传播风险,具有较高的现实意义。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Guidelines for Drinking-water Quality[M]. 4th ed. Geneva:WHO,2011.
- [2] WHO. Drinking-water[EB/OL]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>, 2019-04-12.
- [3] Król-Turmińska K,Olender A. Human infections caused by free-living amoebae[J]. Ann Agric Environ Med, 2017,24(2):254-260.
- [4] Gomes T S,Magnet A,Izquierdo F,et al. *Acanthamoeba* spp. in contact lenses from healthy individuals from Madrid,Spain[J]. Plos One,2016,11(4):e0154246.
- [5] 王智群,姜超,张晓玉,等. 双氢青蒿素对棘阿米巴抑制作用的实验研究[J]. 眼科,2017,26(6):386-

390.
Wang Zhiqun, Jiang Chao, Zhang Xiaoyu, *et al.* Experimental study on the inhibitory effect of dihydroartemisinin on *Acanthamoeba* [J]. *Ophthalmol CHN*, 2017, 26(6):386–390 (in Chinese).
- [6] Piper K J, Foster H, Susanto D, *et al.* Fatal *Balamuthia mandrillaris* brain infection associated with improper nasal lavage [J]. *Int J Infect Dis*, 2018, 77:18–22.
- [7] Miller H C, Morgan M J, Walsh T, *et al.* Preferential feeding in *Naegleria fowleri*; intracellular bacteria isolated from amoebae in operational drinking water distribution systems [J]. *Water Res*, 2018, 141:126–134.
- [8] Marciano-Cabral F, Maclean R, Mensah A, *et al.* Identification of *Naegleria fowleri* in domestic water sources by nested PCR [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(10):5864–5869.
- [9] Laganù P, Caruso G, Piccione D, *et al.* *Legionella* spp., amoebae and not-fermenting Gram negative bacteria in an Italian university hospital water system [J]. *Ann Agric Environ Med*, 2014, 21(3):489–493.
- [10] Lu J, Struewing I, Yelton S, *et al.* Molecular survey of occurrence and quantity of *Legionella* spp., *Mycobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and amoeba hosts in municipal drinking water storage tank sediments [J]. *J Appl Microbiol*, 2015, 119(1):278–288.
- [11] Liu L, Xing X, Hu C, *et al.* One-year survey of opportunistic premise plumbing pathogens and free-living amoebae in the tap-water of one northern city of China [J]. *J Environ Sci*, 2019, 77:20–31.
- [12] Shaheen M, Ashbolt N J. Free-living amoebae supporting intracellular growth may produce vesicle-bound respirable doses of *Legionella* within drinking water systems [J]. *Expos Health*, 2018, 10(3):201–209.
- [13] Ovrutsky A R, Chan E D, Kartalija M, *et al.* Cooccurrence of free-living amoebae and nontuberculous *Mycobacteria* in hospital water networks, and preferential growth of *Mycobacterium avium* in *Acanthamoeba lenticulata* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(10):3185–3192.
- [14] Wang M, Sun G, Sun Y, *et al.* Identification and genotypic characterization of potentially pathogenic *Acanthamoeba* isolated from tap water in Wuxi, China [J]. *Korean J Parasitol*, 2018, 56(6):615.
- [15] de Vera G A, Gerrity D, Stoker M, *et al.* Impact of upstream chlorination on filter performance and microbial community structure of GAC and anthracite biofilters [J]. *Environ Sci: Water Res Technol*, 2018, 4(8):1133–1144.
- [16] Delafont V, Bouchon D, Héchard Y, *et al.* Environmental factors shaping cultured free-living amoebae and their associated bacterial community within drinking water network [J]. *Water Res*, 2016, 100:382–392.
- [17] Qin K, Struewing I, Domingo J, *et al.* Opportunistic pathogens and microbial communities and their associations with sediment physical parameters in drinking water storage tank sediments [J]. *Pathogens*, 2017, 6(4):54.
- [18] Li H, Li S, Tang W, *et al.* Influence of secondary water supply systems on microbial community structure and opportunistic pathogen gene markers [J]. *Water Res*, 2018, 136:160–168.
- [19] Marciano-Cabral F, Jamerson M, Kaneshiro E S. Free-living amoebae, *Legionella* and *Mycobacterium* in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA [J]. *Water Health*, 2010, 8(1):71–82.
- [20] Dupuy M, Berne F, Herbelin P, *et al.* Sensitivity of free-living amoeba trophozoites and cysts to water disinfectants [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2014, 217(2/3):335–339.
- [21] Miller H C, Wylie J, Dejean G, *et al.* Reduced efficiency of chlorine disinfection of *Naegleria fowleri* in a drinking water distribution biofilm [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(18):11125–11131.
- [22] Falkinham J, Pruden A, Edwards M. Opportunistic premise plumbing pathogens: increasingly important pathogens in drinking water [J]. *Pathogens*, 2015, 4(2):373–386.
- [23] Lu J, Buse H, Gomez-Alvarez V, *et al.* Impact of drinking water conditions and copper materials on downstream biofilm microbial communities and *Legionella pneumophila* colonization [J]. *J Appl Microbiol*, 2014, 117(3):905–918.
- [24] Al-Hilfy A A, Am M. Response some types of parasites to the influence of some heavy metals ions under laboratory conditions [J]. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2014, 5(3):6.
- [25] Miller H C, Wylie J, Kaksonen A, *et al.* Competition between *Naegleria fowleri* and free living amoeba

(下转第123页)