



研究报告

城市供水系统对水中真菌数量和群落结构的影响

王钰 刘明坤 苗小草 王杨 白晓慧*

上海交通大学生命科学技术学院 微生物代谢国家重点实验室 上海 200240

摘要:【背景】对于饮用水中的微生物污染，绝大多数研究集中在细菌、病毒及原虫和蠕虫。由于真菌中包含多种潜在致病菌，应当引起人们的关注。【目的】研究城市供水系统中真菌数量、群落组成变化及可能存在的潜在致病真菌。【方法】利用 MEA 和 RB 两种培养基，对供水系统中的原水和两个水厂净水工艺过程及不同供水模式用户龙头水样进行培养法计数统计。提取上述样本总 DNA，并应用 Illumina MiSeq 平台进行 ITS1 区高通量测序。【结果】从 15 个样本中共获得有效序列 579 470 条，1 260 个 OTU，包含 8 个门 26 个纲 67 个目 228 个属的真菌。门水平上子囊菌门真菌为供水系统优势真菌，属水平上不同样本存在差异，但曲霉属和枝顶孢属真菌在所有样本中均存在；培养法和高通量测序结果共同显示，活性炭过滤出水真菌数量和物种丰富度均较前一工艺有所上升；氯化消毒对真菌数量、物种多样性及物种组成影响显著；经过供水管网输配和二次供水设施后，用户龙头水样本真菌数量和物种丰富度明显高于出厂水。【结论】供水系统中的优势真菌为子囊菌门(*Ascomycota*)，该门真菌可穿透净水工艺过程的多级屏障；水厂净水工艺能有效去除水中可培养真菌，生物活性炭过滤工艺能够影响真菌数目及物种多样性；供水管网及二次供水设施是末端饮用水中真菌污染的重要来源；供水系统中存在潜在致病真菌。

关键词: 城市供水系统，真菌，群落结构，微生物风险

Effect of urban water supply system on fungi population and community structure

WANG Yu LIU Ming-Kun MIAO Xiao-Cao WANG Yang BAI Xiao-Hui*

State Key Laboratory of Microbial Metabolism, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

Abstract: [Background] The majority of studies on microbial contamination in drinking water focuses on bacteria, viruses, protozoa and worms, but less on fungi. We should also pay attention to fungi that contains a variety of potential pathogenic groups. [Objective] To study the changes in population and community structure of fungi and potential pathogenic fungi that may exist in urban water supply systems. [Methods] Two culture media (MEA and RB) were used to study the raw water, the purified water from two waterworks and the tap water from different secondary water supply

Foundation items: Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment (2017ZX07207-004, 2017ZX07207-005); National Natural Science Foundation of China (51878406)

*Corresponding author: E-mail: xhbai@sjtu.edu.cn

Received: 12-04-2018; **Accepted:** 11-06-2018; **Published online:** 13-07-2018

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07207-004, 2017ZX07207-005); 国家自然科学基金(51878406)

*通信作者: E-mail: xhbai@sjtu.edu.cn

收稿日期: 2018-04-12; 接受日期: 2018-06-11; 网络首发日期: 2018-07-13

modes in water supply systems. The total DNA of the above samples was extracted and the Illumina MiSeq platform was used for high-throughput sequencing of the ITS1 gene. [Results] According to the high-throughput sequencing data, 579 470 effective sequences and 1 260 OTUs were obtained from 15 samples. The 228 fungal genera belong to 67 orders, 26 classes, and 8 phylum. The dominance of Ascomycota in water supply systems and fungal genera such as *Aspergillus* and *Acremonium* were present in all samples but rest were varied from samples to samples. The results of culture dependent and high-throughput sequencing showed that the population and species richness of fungi rose after filtering by biological activated carbon. Chlorination had a significant effect on the quantity, diversity and community of fungi. After passing through the water distribution systems and secondary water supply facilities, tap water sample showed significantly higher data in the quantity and species richness of fungi than effluent water. [Conclusion] The dominant fungi in the water supply system belong to *Ascomycota* and the dormant fungal spore can penetrate the multi-stage barriers in the water treatment process. The water purification process can effectively remove culturable fungi from water, and the biological activated carbon filtration process can lead a fungus leakage. Water supply pipelines and secondary water supply facilities are important sources of fungal contamination in drinking water and potentially pathogenic fungi that can cause infections exist in water supply systems.

Keywords: Urban water supply systems, Fungi, Community structure, Microbial risk

病原微生物是生活饮用水水质卫生要求的首要关注对象。世界卫生组织(World Health Organization WHO)《饮用水水质准则》(第4版)仅列出了细菌、病毒及原虫和蠕虫等潜在风险微生物名录,但缺乏真菌的相关信息^[1-4]。已有研究表明很多条件致病真菌,如曲霉属^[5](*Aspergillus* spp.)、镰刀霉属^[6](*Fusarium* spp.)等为水生真菌并能介水传播,可对人体健康造成风险。此外,饮用水中的真菌还能引发臭味^[7]、毒素污染^[8]、人类过敏反应^[9]等问题。目前大部分国家和地区都使用粪便污染指示菌(如大肠杆菌、大肠菌群)来指示水中病原微生物风险,但有研究表明饮用水中粪便污染指示菌与真菌之间并无直接关联^[10],仅采用指示菌指标无法反映供水系统中真菌信息,供水系统中的真菌微生物风险应当引起人们关注。

目前,国内外对水环境中真菌检测并无标准方法。平板培养法是其中应用最广泛的方法,但存在耗时长、易受环境条件影响、不能覆盖非培养微生物等问题^[11]。近年来,MiSeq高通量测序凭借其覆盖度深、信息量大、快速简便等优点被广泛应用于各类环境样本真菌微生物群落分析^[12],如霉

霾、土壤、泥炭地、淡水湖等,能够较好地解决传统方法的不足,但将其应用于饮用水水质的研究尚不多见。

本研究以黄浦江上游水源城市供水系统为研究对象,通过平板培养计数以及ITS1区高通量测序方法,分析真菌数量、群落组成在供水系统中的迁移变化及供水系统多级屏障对真菌的影响效能,为供水系统中真菌风险控制提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理

2016年11月,水样采集自以黄浦江上游为水源的炭滤前置水厂(CF水厂)和炭滤后置水厂(PC水厂)供水系统,滤池中活性炭使用年限相同。CF水厂净水工艺过程依次为原水(SOU)、絮凝沉淀(CF_SED)、臭氧氧化(CF_POZ)、生物活性炭过滤(CF_CAR)、砂滤(CF_SAN)、氯胺消毒出水(CF_EFF);PC水厂净水工艺过程依次为原水(SOU)、絮凝沉淀(PC_SED)、砂滤(PC_SAN)、臭氧氧化(PC_POZ)、生物活性炭过滤(PC_CAR)、氯胺消毒出水(PC_EFF)。以及相应输配管网中2种供水模式4个末端样本,2个地面水箱水泵供水系

统样本(Tap1、Tap2)和 2 个市政直供水系统样本(Tap3、Tap4), 共计 15 个样本。每处采集点使用已灭菌容器共采集 10–20 L 水样, 样品采集后立即带回实验室处理并 4 °C 保存备用。

1.2 主要试剂、培养基和仪器

水样基因组 DNA 提取试剂盒(Water DNA Kit), Omega 公司; 麦芽浸膏琼脂培养基(Malt Extract Agar, MEA), OXOID 公司; 孟加拉红琼脂培养基(Rose bengal agar, RB), 青岛海博生物技术有限公司。全自动样品快速研磨仪, 上海净信实业发展有限公司; PCR 仪, Eppendorf 公司; 凝胶成像系统, 上海天能科技有限公司; 电泳仪, Bio-Rad 公司; 过滤器, PALL 公司; 0.45 μm 孔径滤膜, MilliPore 公司。

1.3 平板培养法计数

将采集的水样使用已灭菌 0.45 μm 孔径滤膜抽滤 100 mL, 随后立即将滤膜置于 MEA 和 RB 培养基上(培养基已加入氯霉素和链霉素)^[3], 滤膜和培养基之间应尽量无气泡, 各样品均重复 3 次。28 °C 黑暗培养 7 d 后进行菌落计数, 各水样中菌落数表示为 CFU/100 mL。MEA 培养基与 RB 培养基均为检测真菌总数的常用培养基, 2 种培养基配合使用旨在尽量培养出样本中全部种类的真菌, 减少误差。数据结果用 SPSS 19.0.0 进行统计分析。

1.4 水样总 DNA 提取与 ITS1 区高通量测序

将采集水样使用已灭菌 0.45 μm 孔径滤膜抽滤浓缩, 依照水体基因组 DNA 提取试剂盒操作说明提取水样总 DNA。提取不同采样点水样总 DNA 时, 水样用量为 600 mL 到 4 L 不等。每处采集点水样均提取 3 个重复水样总 DNA, 将所得 DNA 混合均匀后作为待测总 DNA 样品备用。

使用待测总 DNA 作为模板扩增 ITS1 区, 扩增引物为 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCCTTCATCGATGC-3')^[13]。PCR 反应体系(20 μL): 10× *rTaq* buffer 2 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 5 μmol/L 上、下游引物各 0.8 μL, *rTaq* polymerase (5 U/μL) 0.2 μL, BSA

0.2 μL 和 DNA 模板 10 ng, ddH₂O 补足至 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 35 个循环; 72 °C 10 min。2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。将扩增产物送至上海美吉生物医药科技有限公司, 采用 Illumina MiSeq 测序平台进行测序。

1.5 测序数据质控与分析

测序完毕后, 将过滤后的双端序列拼接为一条序列, 过滤掉 Overlap 小于 10 bp 且错配率大于 0.2 的序列, 根据 Barcode 与引物序列, 调整序列方向得到优化数据, 使用 USEARCH^[14]对不同相似度序列进行 OTU (Operational taxonomic unit) 划分, 以大于 97% 相似水平对已提取的非重复序列进行聚类(其间需去除嵌合体)后得到 OTU 代表序列, 随后选出与代表序列相似性在 97% 以上的优化序列生成 OTU 表格; 利用 QIIME (V1.8.0)^[15]平台在 UNITE (V7.1.0)中以置信度 70% 得到 OTU 对应的物种信息进行注释分析, 以及计算 α 多样性指数 Chao1 和 Shannon 指数^[16-17]; 利用 Fast UniFrac 根据 UniFrac 算法计算样本间距离矩阵绘制热图 (Heatmap), 进行 β 多样性分析。

2 结果与分析

2.1 供水系统中真菌数量变化

采用 MEA 培养基与 RB 培养基对供水系统中真菌数量的检测结果如图 1 所示。经统计分析, 采用 2 种培养基检测的真菌数量之间无显著差异 ($P>0.05$)。黄浦江原水真菌数量可达 200 CFU/100 mL, 经过混凝沉淀、臭氧氧化、砂滤、消毒, 水中真菌都有明显的去除效果。经过生物活性炭处理后水中真菌数目又有所上升, 其中, 活性炭滤池前置水厂真菌数目上升至 30 CFU/100 mL, 活性炭滤池后置水厂真菌数目上升至 28 CFU/100 mL, 说明运行中的生物活性炭滤池存在微生物泄漏现象, 从而导致水中真菌数量有所上升。经过水厂消毒工艺后, 2 个水厂出厂水中可培养真菌数目均为 0 CFU/100 mL, 水中可培养真菌得到完全去除, 净水工艺对原水中可培养真菌可实现高效控制。

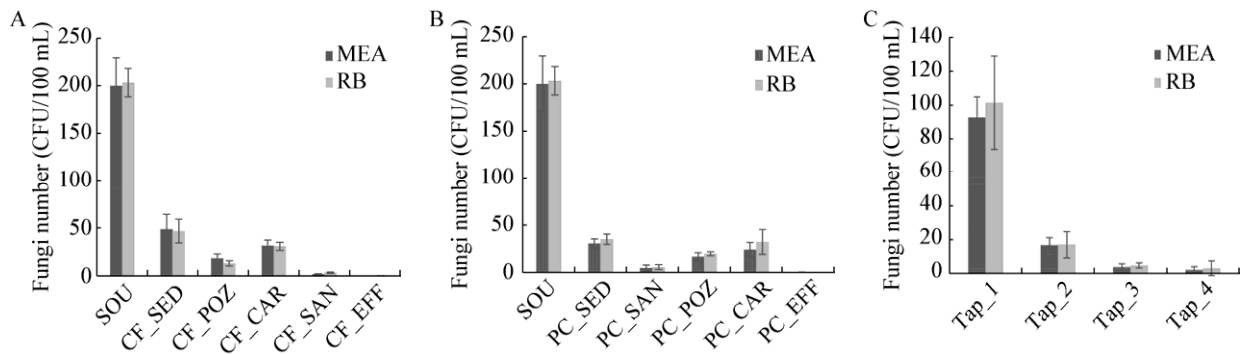


图 1 城市供水系统中真菌数量变化

Figure 1 Variation of the fungi numbers in water supply systems

注: A: CF 水厂; B: PC 水厂; C: 用户龙头水.

Note: A: CF waterworks; B: PC waterworks; C: Tap water.

经过供水管网输配后, 真菌数量又出现上升, 特别是经过二次供水水箱水泵系统后, 用户龙头水中真菌数量明显上升, 最高可达到 100 CFU/100 mL, 明显超过直供水模式。因此, 二次供水模式应尽量减少中间停滞环节以控制供水管网中真菌的再生风险。

2.2 供水系统中真菌群落组成变化

在 UNITE (V7.1.0) 数据库中将聚类获得的 OTU 进行比对, 根据分类学结果可以获得各样本在门(Phylum)和属(Genus)水平上真菌的群落结构组成。图 2A、B、C 分别表示了炭滤前置水厂、炭滤后置水厂以及二次供水样品在门水平上的真菌相对丰度统计信息, 图 2D、E、F 分别表示了各样品在属水平上的真菌相对丰度统计信息。

如图 2A、B、C 所示, 在门水平上, 黄浦江上游原水中含有大量未分类(Unclassified)真菌(92.44%), 经过净水工艺后的两水厂出厂水中, Unclassified 真菌相对丰度则分别下降至 3.07%和 4.93%, 经过供水输配管网直接进入用户的 Unclassified 真菌相对丰度(6.44%和 3.52%)低于经过二次供水设施(如水箱)的用户水中的 Unclassified 真菌相对丰度(19.24%和 7.35%)。表明在供水系统原水中含有大量未知真菌, 经过水厂净化工艺后, 水中未知真菌能得到有效去除, 但二次

供水设施有利于水中各种真菌增殖。在整个供水系统中, 随着原水中占比最大的 Unclassified 真菌受净水工艺影响相对丰度大幅度下降, 原水中占比较低的子囊菌门(*Ascomycota*)则逐渐增至最大, 从原水中占比 6.4%增至 CF 水厂出水中 65.69%、PC 水厂出水中 55.02%、用户水中 54.43%。供水系统中还存在担子菌门(*Basidiomycota*)、壶菌门(*Chytridiomycota*)、接合菌门(*Zygomycota*), 占比均较低(0–6.03%)。

如图 2D、E、F 所示, 在属水平上, 曲霉属(*Aspergillus*) (1.27%)、枝顶孢属(*Acremonium*) (0.78%)、红曲霉属(*Monascus*) (0.7%)、*Neocamarosporium* (0.4%)、链格孢属(*Alternaria*) (0.37%)、脉孢菌属(*Neurospora*) (0.3%)、*Wallemia* (0.25%)、镰刀霉属(*Fusarium*) (0.22%)在黄浦江原水样本中丰度较高; 发菌科(*Trichocomaceae*) unclassified (9.53%)、*Acremonium* (8.8%)、肉座菌目(*Hypocreales*) unclassified (7.94%)、*Aspergillus* (7.12%)、*Alternaria* (3.37%)、链枝菌科(*Catenariaceae*) unclassified (5.9%)、毛壳霉属(*Chaetomium*) (2.06%)、腐质霉属(*Humicola*) (2.67%)和 *Sagenomella* (2.08%)在 CF 水厂样本中丰度较高; *Acremonium* (9.1%)、*Aspergillus* (9.06%)、*Neocamarosporium* (5.37%)、*Alternaria* (5.17%)、

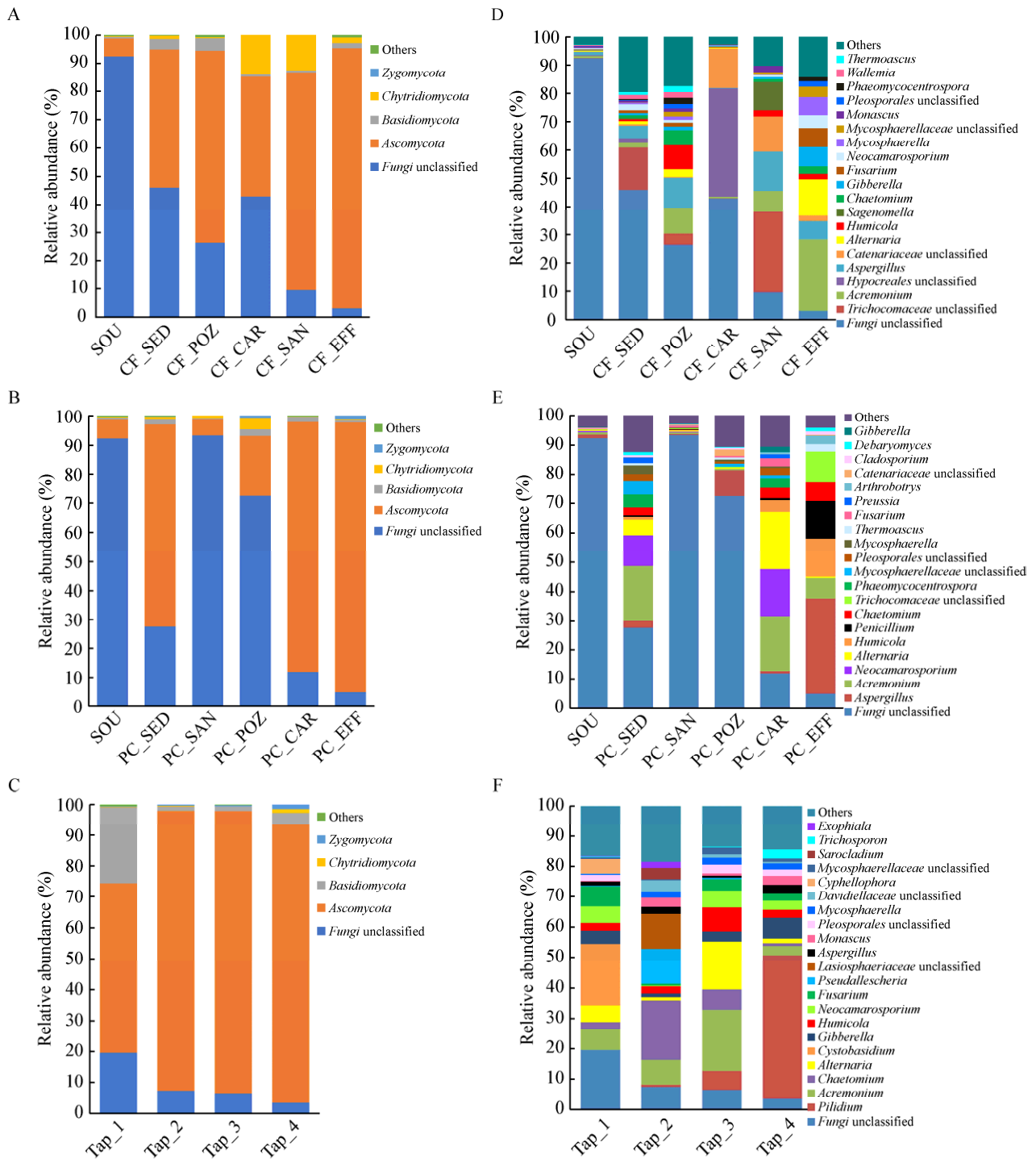


图 2 城市供水系统中真菌门水平与属水平相对丰度分析

Figure 2 The relative abundance of fungi on the phylum and genus level in water supply systems

注：A：CF 水厂门水平；B：PC 水厂门水平；C：用户龙头水门水平；D：CF 水厂属水平；E：PC 水厂属水平；F：用户龙头水属水平。

Note: A: Phylum level in CF waterworks; B: Phylum level in PC waterworks; C: Phylum level in tap water; D: Genus level in CF waterworks; E: Genus level in PC waterworks; F: Genus level in tap water.

Humicola (3.63%)、青霉属 *Penicillium* (2.84%)、*Chaetomium* (2.56%)、*Trichocomaceae* unclassified (2.21%)和 *Phaeomycoentrospora* (1.59%)在 PC 水厂样本中丰度较高; *Pilidium* (10.87%)、*Acremonium* (7.68%)、*Chaetomium* (5.92%)、*Alternaria* (4.75%)、*Cystobasidium* (4.04%)、赤霉菌属 *Gibberella* (3.1%)、*Humicola* (3.07%)、*Neocamarosporium* (2.85%)、*Fusarium* (2.66%)在用户龙头水样中丰度较高。在所有样本中均存在的为支顶孢属 (*Acremonium*)和曲霉属 (*Aspergillus*)。

2.3 供水系统中真菌群落多样性分析

α 多样性指数通过对单样本进行分析,以统计学指数来反映生物群落的丰度和多样性。其中 Chao1 指数常用来估算物种数目,与物种丰富度成正比; Shannon 指数从均匀度和丰富度 2 个维度共同反映物种多样性,与物种多样性成正比。由表 1 可知,所有样本的覆盖率均大于 99.9%,表明所有样本中真菌的物种信息已经基本被覆盖完全。供水系统中,黄浦江上游原水样本 Chao1 指数(391.2)最高; CF 水厂和 PC 水厂经过生物活性炭处理后的水样 Chao1 指数均比前一净水工艺单元有所上

升; CF 水厂的砂滤后与出厂水样品 Chao1 指数已经降低到 60.0 与 77.5, PC 水厂出厂水 Chao1 指数为 44.0; 用户龙头水样本 Chao1 指数均高于两水厂出厂水样本。结果表明生物活性炭工艺能增加真菌物种丰富度,而氯化消毒能使对消毒剂敏感物种失活并去除,经过供水管网输配和二次供水设施后,水中真菌物种丰富度再度增加,特别是经过二次供水设施后,物种丰富度增加显著。

Unweighted UniFrac 距离算法不计入相对丰度差异,仅考虑物种类别差异,通过计算样本距离矩阵可以检测不同样本间物种种类变化。图 3 为基于 Unweighted UniFrac 距离算法的所有样本在 OTU 水平上的样本距离热图,样本距离用颜色梯度表示。可以看出,图中样本距离结果完全支持 α 多样性指数分析结果。CF 水厂砂滤后样本距离和出厂水样本非常接近,与炭滤后的距离差异显著; 同样, PC 水厂经过活性炭处理后样本与 CF 水厂炭滤后样本距离接近,与出厂水样本差距显著; 二次供水样本中,市政直供水各样本距离较近,说明消毒工艺及二次供水设施对物种丰富度的显著影响。

2.4 城市供水系统中潜在致病真菌的分布

表 2 为所研究城市供水系统中通过高通量测序方法检测出的 7 种潜在致病真菌的分布。其中,青霉属真菌 *Penicillium lilacinum* 能够引发眼部感染、皮肤感染和甲癣^[18]; *Penicillium marneffeii* 能感染免疫缺陷人群^[19]; 枝孢霉属、链格孢属与支顶孢属真菌能够引发过敏、过敏性肺炎、鼻炎和哮喘^[20]; 曲霉属真菌中的一些条件致病菌,如黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*)、*Aspergillus calidoustus*、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)常在饮用水中被检测和分离到^[2]; 饮用水被认为是引发曲霉侵染的可能环境来源之一。黄曲霉毒素和黄曲霉在二次供水水箱水中被检出^[8],若长期摄入低剂量黄曲霉毒素,会引起慢性黄曲霉毒素中毒症并导致免疫抑制等疾病^[21]; 假丝酵母菌属真菌在人体抵抗力下降时,能够引发皮肤、粘膜和

表 1 供水系统中 Alpha 多样性指数变化
Table 1 The Alpha diversity index in water supply system

Sample	Chao1 index	Shannon index	Coverage (%)
SOU	391.2	3.278 746	99.96
CF_SED	314.142 9	4.336 488	99.97
CF_POZ	141.2	4.077 612	99.99
CF_CAR	236.5	1.949 183	99.90
CF_SAN	60.0	2.723 005	99.98
CF_EFF	77.5	3.295 016	99.99
PC_SED	164.428 6	3.809 336	99.96
PC_SAN	284.375	1.865 31	99.94
PC_POZ	210.857 1	3.780 981	99.99
PC_CAR	255.333 3	3.358 821	99.96
PC_EFF	44.0	2.634 728	100.00
Tap_1	279.25	4.004 644	99.97
Tap_2	111.0	3.509 377	99.99
Tap_3	117.428 6	3.145 825	99.99
Tap_4	87.0	2.614 185	99.98

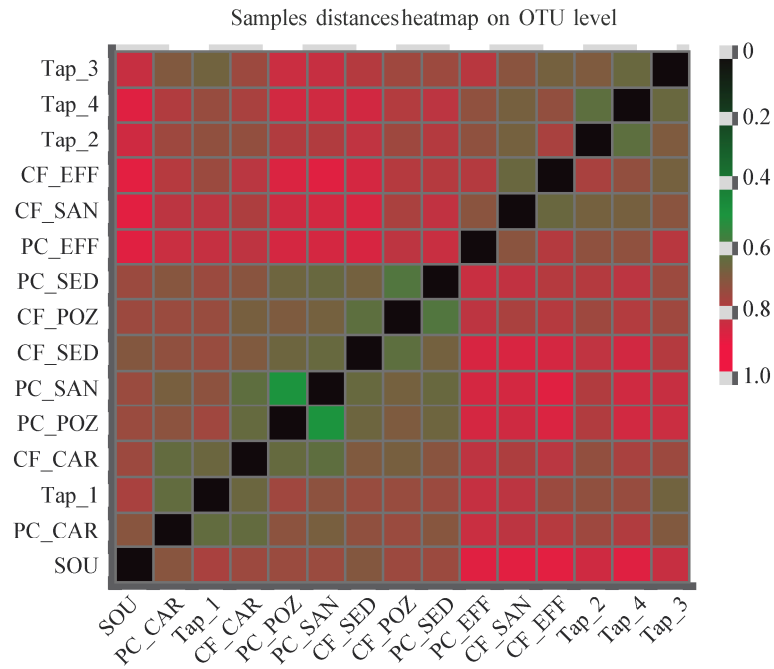


图3 OTU水平下基于Unweighted UniFrac算法样本距离热图

Figure 3 Heatmap of the Unweighted UniFrac pairwise distance on OTU level

内脏的炎症，对人类健康造成严重危害^[22]；在美国德克萨斯州的一个医院中，饮用水被认为是镰刀霉属真菌侵染的环境来源^[6]。

3 讨论与结论

真菌在供水系统中广泛存在，但国际上对饮用水中真菌的检测与计数方法并无统一标准。应用最广泛和最普遍的仍是传统培养法，以CFUs (Colony forming units)对单位体积样本中的真菌数量进行统计，并通过分离培养、显微观察或分子手段鉴定真菌。尽管传统平板培养法操作简单、费用低廉，

但仍存在许多问题。如在实验室条件下并非所有真菌都能够培养；培养基种类、温度等外界环境条件对真菌种类鉴定都有影响；每一个CFU可能由许多真菌结构组成，不同的结构个体聚集为一个CFU而影响计数结果准确性等^[23]。Paterson等^[24]也在研究中表示，由于上述种种原因使得不同报道中的饮用水中真菌检测与计数结果很难进行比较。近年来，高通量测序技术的快速发展为研究饮用水真菌提供了新思路，有助于更加深入全面地了解饮用水的真菌群落结构。本研究将城市供水系统分为原水、净水工艺、二次供水3个部分，通过培养法和

表2 供水系统中潜在致病真菌分布

Table 2 The distribution of potential pathogenic fungi in the water supply system

Genus	Phylum	SOU (%)	CF_EFF (%)	PC_EFF (%)	Tap water (%)
青霉属 <i>Penicillium</i>	<i>Ascomycota</i>	0.03	0.00	12.82	0.45
枝孢霉属 <i>Cladosporium</i>	<i>Ascomycota</i>	0.10	0.00	1.25	0.45
曲霉属 <i>Aspergillus</i>	<i>Ascomycota</i>	1.27	6.53	32.80	1.79
支顶孢属 <i>Acremonium</i>	<i>Ascomycota</i>	0.78	25.33	6.96	9.60
假丝酵母菌属 <i>Candida</i>	<i>Ascomycota</i>	0.06	0.00	0.59	0.23
镰刀霉属 <i>Fusarium</i>	<i>Ascomycota</i>	0.22	6.66	0.00	3.32
链格孢属 <i>Alternaria</i>	<i>Ascomycota</i>	0.37	12.76	0.48	5.94

免培养法(高通量测序)对整个城市供水系统中的真菌数量、群落结构和多样性进行了分析。

本研究通过高通量测序对供水系统 15 个样品中真菌的 ITS1 区进行了检测,共计检测到 8 门 26 纲 67 目 228 属的真菌。通过对群落组成分析,可知子囊菌门为供水系统中的优势菌门,但黄浦江上游原水、净水工艺和用户龙头水之间优势菌属各有不同。在所有样品中均有曲霉属与支顶孢属真菌存在,表明这 2 种菌属能够穿透净水工艺过程的多级屏障,现有的净水工艺无法将其有效去除。在其他研究中也从饮用水中分离得到曲霉属与支顶孢属真菌^[25]。曲霉属与支顶孢属真菌的孢子为疏水性孢子,更容易集聚或与其它颗粒物结合而抵抗净水工艺中的胁迫条件^[26]。此外,这两属的真菌均能够产生黑色素,从而为其在胁迫条件下提供保护^[27],因此在整个供水系统中均能存活。

CF 水厂和 PC 水厂工艺顺序不相同,但 2 个水厂经过生物活性炭滤池的出水真菌数目与物种多样性均比前一工艺单元有所上升,这主要是由于生物活性炭过滤工艺在运行中受到水流冲刷,附着在活性炭表面的真菌发生脱落所致。生物活性炭滤池出水中微生物数量上升这一问题并不鲜见,如 Han 等^[28]研究表明由于活性炭上附着的生物膜,导致该工艺出水细菌总数达数万 CFU/mL。多项研究表明虽然细菌是生物膜的主要组成部分,但真菌也能够嵌入生物膜中^[29]。Chao1 指数反映了样本物种丰富度信息,基于 Unweighted UniFrac 算法的样本距离则反映了物种差异信息。CF 水厂砂滤池前已经进行了氯化消毒,PC 水厂是在出厂水前加氯进行消毒,结果显示 CF 水厂砂滤池出水真菌物种数目较炭滤池出水有明显下降且与出厂水相近,物种种类与 2 个水厂出厂水也很相似。可以看出,氯化消毒对真菌的去除起到了关键作用,而研究显示真菌的耐氯性远高于普通细菌,甚至包括大肠杆菌^[30]。若以大肠杆菌作为加氯量的指示微生物,则不能较好地反映真菌风险。

通过平板培养计数法结果可知水厂净水工艺

能有效去除水中可培养真菌。两个水厂出厂水中真菌数目皆为 0,但高通量测序分析结果显示这 2 个样本中仍有部分真菌存在。文刚等^[31]对氯灭活木霉属、青霉属、枝孢属真菌机制的研究结果显示,灭活后样本中所有孢子胞内 ATP 的比例显著高于其中可培养孢子的比例,即有部分真菌孢子仍具有代谢活性但已经无法在培养基上生长。表明真菌也可能会进入有活性但不能培养(Viable but non-culturable, VBNC)状态,在适当条件下还能再重新培养生长;经过供水管网和二次供水环节之后,真菌数量(平板培养法计数)及真菌物种多样性(Chao1 指数)均较出厂水有了明显上升,由此可以推测供水管网及二次供水设施是末端饮用水中真菌污染的重要来源。已有研究表明供水管网中生物膜是真菌重要的栖息地。Grabińska-Loniewska 等^[1]研究表明生物膜上的真菌数量是水中的 1 000–5 000 倍,而由于管网末端余氯的衰减,不足以杀灭真菌,使得真菌更加容易定殖在管网末端,水流剪切力会使生物膜周期性脱落到水中,使真菌释放到水中并沿供水管网传播。Anaissie 等^[32]在研究中发现,曲霉属真菌数量在贮水池中要显著高于市政供水龙头水中。Hageskal 等^[2]也提出水池水箱更易滋生大量真菌。

对本研究数据和文献中报道的潜在病原微生物进行比对后发现,所研究城市供水系统中存在潜在致病真菌。Hageskal 等^[2]发现直接饮用受真菌污染的水对免疫功能完全的人来说并不会引起急性疾病,但依旧有可能引发表层和局部感染,对免疫功能有缺陷的人来说可能引发严重的感染。还有研究发现^[6],从受疟疾镰刀菌感染的病人临床样本中分离出的真菌与供水系统中的镰刀属菌基因型匹配,从病人肺部获得的烟曲霉与医院供水系统中的烟曲霉菌基因型一致,表明供水系统为引发感染的源头。瑞典和芬兰也分别报道过由水中真菌引发的人群大面积皮肤、肺部过敏现象^[33-34]。因此,供水系统中真菌微生物安全问题不容忽视,需要更多研究以加深理解并发现有效控制途径。

REFERENCES

- [1] Grabińska-Loniewska A, Konińłowicz-Kowalska T, Wardzyńska G, et al. Occurrence of fungi in water distribution system[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2007, 16(4): 539-547
- [2] Hageskal G, Gaustad P, Heier BT, et al. Occurrence of moulds in drinking water[J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 102(3): 774-780
- [3] Al-Gabr HM, Zheng T, Yu X. Occurrence and quantification of fungi and detection of mycotoxigenic fungi in drinking water in Xiamen City, China[J]. Science of the Total Environment, 2014, 466-467: 1103-1111
- [4] Bandh SA, Kamili AN, Ganai BA, et al. Opportunistic fungi in lake water and fungal infections in associated human population in Dal Lake, Kashmir[J]. Microbial Pathogenesis, 2016, 93: 105-110
- [5] Anaissie EJ, Penzak SR, Dignani MC. The hospital water supply as a source of nosocomial infections: A plea for action[J]. Archives of Internal Medicine, 2002, 162(13): 1483-1492
- [6] Anaissie EJ, Kuchar RT, Rex JH, et al. Fusariosis associated with pathogenic fusarium species colonization of a hospital water system: a new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections[J]. Clinical Infectious Diseases, 2001, 33(11): 1871-1878
- [7] Bai XZ, Zhang T, Qu ZP, et al. Contribution of filamentous fungi to the musty odorant 2,4,6-trichloroanisole in water supply reservoirs and associated drinking water treatment plants[J]. Chemosphere, 2017, 182: 223-230
- [8] Paterson RRM, Kelley J, Gallagher M. Natural occurrence of aflatoxins and *Aspergillus flavus* (Link) in water[J]. Letters in Applied Microbiology, 1997, 25(6): 435-436
- [9] Vesper SJ, Haugland RA, Rogers ME, et al. Opportunistic *Aspergillus* pathogens measured in home and hospital tap water by quantitative PCR (QPCR)[J]. Journal of Water & Health, 2007, 5(3): 427-431
- [10] Göttlich E, van der Lubbe W, Lange B, et al. Fungal flora in groundwater-derived public drinking water[J]. International Journal of Hygiene & Environmental Health, 2002, 205(4): 269-279
- [11] Hageskal G, Lima N, Skaar I. The study of fungi in drinking water[J]. Mycological Research, 2009, 113(2): 165-172
- [12] Buse HY, Lu JR, Struewing IT, et al. Eukaryotic diversity in premise drinking water using 18S rDNA sequencing: implications for health risks[J]. Environmental Science & Pollution Research International, 2013, 20(9): 6351-6366
- [13] Adams RI, Miletto M, Taylor JW, et al. Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances[J]. The ISME Journal, 2013, 7(7): 1262-1273
- [14] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461
- [15] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336
- [16] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. Scandinavian Journal of Statistics, 1984, 11(4): 265-270
- [17] Hill MO. Diversity and evenness: A unifying notation and its consequences[J]. Ecology, 1973, 54(2): 427-432
- [18] Gottlieb T, Atkins BL. Case Report. Successful treatment of cutaneous *Paecilomyces lilacinus* infection with oral itraconazole in an immune competent host[J]. Mycoses, 2001, 44(11/12): 513-515
- [19] Valeyrie L, Botterel F, Minozzi C, et al. Prolonged fever revealing disseminated infection due to *Penicillium marneffei* in a French HIV-seropositive patient[J]. Aids, 1999, 13(6): 731-732
- [20] Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB, et al. The diagnosis and incidence of allergic fungal sinusitis[J]. Mayo Clinic Proceedings, 1999, 74(9): 877-884
- [21] Azziz-Baumgartner E, Lindblade K, Giesecker K, et al. Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004[J]. Environmental Health Perspectives, 2005, 113(12): 1779-1783
- [22] De Rosa FG, Garazzino S, Pasero D, et al. Invasive candidiasis and candidemia: new guidelines[J]. Minerva Anestesiologica, 2009, 75(7/8): 453-458
- [23] Gonçalves AB, Paterson RRM, Lima N. Survey and significance of filamentous fungi from tap water[J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2006, 209(3): 257-264
- [24] Paterson RRM, Hageskal G, Skaar I, et al. Occurrence, problems, analysis and removal of filamentous fungi in drinking water[A]//Fungicides. Chemistry, Environmental Impact and Health Effects[M]. New York: Nova Science Publishers Inc., 2009: 380-399
- [25] Sammon NB, Harrower KM, Fabbro LD, et al. Incidence and distribution of microfungi in a treated municipal water supply system in sub-tropical Australia[J]. International Journal of Environmental Research & Public Health, 2010, 7(4): 1597-1611
- [26] Mamane-Gravetz H, Linden KG. Relationship between physiochemical properties, aggregation and u.v. inactivation of isolated indigenous spores in water[J]. Journal of Applied Microbiology, 2005, 98(2): 351-363
- [27] Langfelder K, Streibel M, Jahn B, et al. Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi[J]. Fungal Genetics & Biology, 2003, 38(2): 143-158
- [28] Han LN, Liu WJ, Chen M, et al. Comparison of NOM removal and microbial properties in up-flow/down-flow BAC filter[J]. Water Research, 2013, 47(14): 4861-4868
- [29] Paramonova E, Krom BP, van der Mei HC, et al. Hyphal content determines the compression strength of *Candida albicans* biofilms[J]. Microbiology, 2009, 155(6): 1997-2003
- [30] Ma X, Bibby K. Free chlorine and monochloramine inactivation kinetics of *Aspergillus* and *Penicillium* in drinking water[J]. Water Research, 2017, 120: 265-271
- [31] Wen G, Zhu H, Huang TL, et al. Inactivation efficiency and mechanism of three dominant fungal spores in drinking groundwater by chlorine[J]. Environmental Science, 2016, 37(11): 4228-4234 (in Chinese)
文刚, 朱红, 黄廷林, 等. 氯灭活地下水源中 3 种优势真菌的效能与机制[J]. 环境科学, 2016, 37(11): 4228-4234
- [32] Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, et al. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: A 3-year prospective study[J]. Clinical Infectious Diseases, 2002, 34(6): 780-789
- [33] Aslund P. Skin irritations cause by moulds[J]. Var Föda, 1984, 36: 327-336 (in Swedish)
- [34] Muittari A, Kuusisto P, Virtanen P, et al. An epidemic of extrinsic allergic alveolitis caused by tap water[J]. Clinical & Experimental Allergy, 1980, 10(1): 77-90