

Tomasz Podsiadły

Genotoksyczność wody do picia w wybranych wodociągach

Długoletnia ekspozycja populacji ludzi na mikrozanieczyszczenia obecne w wodzie do picia oraz często niemożliwy do wyodrębnienia spośród innych czynników ich wpływ na zdrowie człowieka, powodują konieczność monitorowania mikrozanieczyszczeń, przede wszystkim w aspekcie ich potencjalnej kancerogenności [14]. Ocena ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej, w powiązaniu z organicznymi zanieczyszczeniami wody do picia, staje się coraz ważniejsza z uwagi na postępującą degradację wód i wprowadzanie do środowiska licznych substancji chemicznych [9]. Woda – ze względu na specyficzne właściwości chemiczne i fizyczne – może decydować o poziomie genotoksyczności zawartych w niej składników lub wpływać na występujące między nimi relacje o charakterze antagonistycznym lub synergistycznym [9,13]. Liczba organicznych zanieczyszczeń występujących w wodach jest trudna do oszacowania. Tylko nieznaczna ich część została zidentyfikowana, a jeszcze mniejsza jest dostępna do badań w testach *skringingowych* [9,12].

Obecnie jednym z najważniejszych problemów związanych z jakością wody do picia są uboczne produkty dezynfekcji [3,5]. Oprócz wielu powszechnie uznanych za potencjalnie rakotwórcze trihalometanów i chlorofenoli, dezynfekcja może powodować powstawanie związków trudnych lub niemożliwych do identyfikacji, występujących w wodzie w bardzo niskich stężeniach [5,9]. Pomimo wieloletnich badań, dostępne wyniki nie mogą praktycznie służyć do oceny stopnia genotoksyczności wody. Odmienne procedury otrzymywania ekstraktów organicznych, różnorodne testy *skringingowe* i ich modyfikacje pozwalają jedynie na ogólną charakterystykę genotoksyczności wody do picia [4].

Wielokrotnie wykazywana w *skringingu* bakteryjnym mutagenność organicznych ekstraktów wody do picia [9,10,14] oraz ograniczone dane dotyczące ich kancerogenności w długoterminowych badaniach na zwierzętach i w badaniach epidemiologicznych, przyczyniają się w istotny sposób do konieczności opracowania jednolitego i uniwersalnego systemu badań nad obecnością w niej genotoksyn, opartego o testy z użyciem bakterii [21]. Zdobyte biologii molekularnej, a szczególnie inżynierii genetycznej, pozwoliły na opracowanie ekonomicznego i efektywnego testu UMU [19], wykorzystującego tylko jeden szczep bakteryjny, którego czułość porównywalna jest z testem Ames, a specyficzność jest znacznie większa od znanych i stosowanych w badaniach wody testów bakteryjnych [1,2]. Znaczącym jego atutem jest również możliwość miniaturyzacji i ograniczenia do minimum możliwości subiektywnej oceny wyników [20]. Nieliczne zastosowania testu UMU w badaniach wody potwierdzają jego wysoką przydatność, szczególnie w badaniach wody dezynfekowanej [14].

Materiały i metody

Podłoża i odczynniki

– TGA: 10 g Bacto Tryptone (Difco), 5 g NaCl cz.d.a. (Sigma), 11,9 g HEPES (Sigma), 2 g D(+)-glukoza (Sigma), 50 mg ampicylina (Sigma); do 1000 cm³ wody redestylowanej, pH=7,0 ±0,2,

– bufor Z: 20,18 g Na₂HPO₄·2H₂O (POCH Gliwice), 5,5 g NaH₂PO₄·H₂O (POCH Gliwice), 0,1 g SDS (Sigma), 2,7 cm³ 2-merkaptoetanol (Sigma) do 1000 cm³ wody redestylowanej, pH=7,0 ±0,2,

– roztwór ONPG: 45 mg ONPG (Sigma) w 10 cm³ buforu fosforanowego – 1,086 g,

– roztwór hamujący: 105,99 g Na₂CO₃ do 1000 cm³ wody redestylowanej,

– HCl cz.d.a. (Merck); 4NQNO (Fluka), metanol cz.d.a. (POCH Gliwice), DMSO (Fluka),

– żywice Amberlite: XAD7 i XAD16 (Rohm and Haas).

Szczep testowy

Szczep *Salmonella typhimurium* TA1535/psk1002 otrzymano z *German Collection for Microbes*. Testowy szczep zawierał zwielokrotniony plazmid psk1002 z fuzją genów UmuD, UmuC, LacZ – strukturalnym genem β-galaktazy [19]. Dodatkowo wyposażony był w modyfikacje genetyczne zwiększające jego czułość i specyficzność. Pojedyncza mutacja (rfa), warunkująca defekt w ścianie komórkowej, umożliwia przenikanie dużych molekuł, które w szczepach dzikich nie mogą przekroczyć bariery osłon komórkowych [1,17], natomiast delecja w jednym z genów odpowiadających za system naprawy DNA przez wycinanie (UvrB) bezpośrednio zwiększa jego czułość na szerokie spektrum genotoksyn [6]. Oporność szczepu na ampicylinę umożliwia jego selekcję i zabezpiecza hodowlę przed zakażeniem [16].

Test UMU

Test UMU opiera się na zdolności indukcji ekspresji genu UmuC w operonie SOS przez czynniki uszkodzające DNA, tj. naruszenie stabilności nici DNA [11]. Gen UmuC, w powiązaniu z innymi indukowanymi genami recA, lexA i UmuD, w znacznym stopniu odpowiada za tzw. mutagenozę bakteryjną, nazywaną procesem reperacji SOS [15,17]. Indukcja genu UmuC, połączonego w funkcjonalną całość z genem LacZ, mierzona jest poziomem aktywności wewnątrzkomórkowej β-galaktazy, przy jednoczesnej delecji naturalnego regionu LacZ w genomie bakteryjnym. Zwielokrotnienie układu UmuC...LacZ na licznych kopiach plazmidu psk1002 znacznie przyspiesza odpowiedź i nadaje szczepowi TA1535 wysoką czułość [6].

W pracy zastosowano probówkową wersję testu UMU, zachowując podstawowe założenia mikrotestu UMU (zgodnie z proponowaną normą ISO 147/S.C. 5:N164). Szczep testowy przechowywano w głębokim zamrożeniu (-80°C) w podłożu TGA z dodatkiem DMSO (7%). Nocną hodowlę (200 μl hodowli odmrożonej i 10 cm^3 TGA) wytrząsano przez 12 godzin w temperaturze 37°C , a gęstość optyczna nie była mniejsza niż 800 FNU. *Inokulum* do testu – hodowlę w logarytmicznej fazie wzrostu – przygotowano przez 10-krotne rozcieńczenie hodowli nocnej ciepłym TGA i inkubację z wytrząsaniem (amp. 6 cpm 160) przez około 1,5 godziny do uzyskania gęstości optycznej (600 ± 20 nm) w granicach 340+350 FNU. Z tak przygotowanym i wystandaryzowanym *inokulum* test rozpoczynano w ciągu 10 minut.

Preparatyka próbek wody

Próbki wody o objętości 10 dm^3 pobierano z zakładów wodociągowych i sieci wodociągowej oraz porównawczo – z ujęcia oligoceńskiego. Charakterystykę wód przedstawia tabela 1.

Wszystkie próbki zakwaszono do $\text{pH}=2,0 \pm 0,2$ (HCl cz.d.a.), a następnie zateżono na układzie żywic XAD16/XAD7 [9,18]. Procedurę przygotowania kolumn adsorpcyjnych wykonano zgodnie z zaleceniami producenta żywic – firmą Rohm and Haas. Objętość złoża w kolumnach o długości 40 cm i średnicy

Tabela 1. Charakterystyka próbek wody

Próbka wody	Charakterystyka próbki wody	Data poboru
A	Wodociąg A: woda z ujęcia powierzchniowego, dezynfekowana dwutlenkiem chloru i chlorem	III 1999
B	Wodociąg A: woda infiltracyjna, dezynfekowana dwutlenkiem chloru i chlorem	III 1999
C	Wodociąg A: ujęcie powierzchniowe i infiltracyjne, dezynfekacja chlorem i dwutlenkiem chloru, woda na jednym z wyjść do sieci miejskiej – brak danych o stopniu mieszania się wody powierzchniowej i infiltracyjnej	III 1999
D*	Wodociąg A :Woda po filtrze piaskowym, dezynfekowana dwutlenkiem chloru i chlorem	III 1999
E*	Wodociąg A: woda po filtrze węglowym (eksploatowany od 1995 r.), dezynfekowana dwutlenkiem chloru i chlorem	III 1999
F*	Wodociąg A: woda po filtrze węglowym (eksploatowany od XII 1999 r.), dezynfekowana dwutlenkiem chloru	III 1999
G	Wodociąg B: woda z kredowego ujęcia głębinowego, dezynfekowana podchlorynem sodu	III 1999
H	Wodociąg B: woda z czwartorzędowego ujęcia głębinowego, dezynfekowana podchlorynem sodu	III 1999
I	Wodociąg C: ujęcie infiltracyjne, chlorowanie	II 1999
J	Wodociąg D: ujęcie infiltracyjne, dezynfekacja dwutlenkiem chloru	II 1999
K	Sieć wodociągowa w Warszawie	VI 1998
L	Wodociąg E: ujęcie powierzchniowe, woda po ozonowaniu i chlorowaniu	I 1999
M	Ujęcie oligoceńskie w Warszawie	IV 1998

*wodociąg A wykorzystuje dwa ujęcia wody – infiltracyjne i powierzchniowe; woda infiltracyjna uzdatniana jest m.in. na filtrach piaskowych i piaskowych z wkładami węglowymi o różnym czasie eksploatacji; próbki wody pobrano oddzielnie po filtrze piaskowym (próbka D), najstarszym (rozruch 1995 r. – próbka E) i najmłodszym filtrze węglowym (tuż po zakończonym rozruchu – próbka F); po obliczeniu zapotrzebowania na dezynfektant dawkowano do wody dwutlenek chloru, a następnie w razie konieczności chlor; dawkowanie dezynfektanta prowadzono w warunkach laboratoryjnych; w ten sposób przygotowane próbki wody poddano procedurze przygotowania do testu UMU

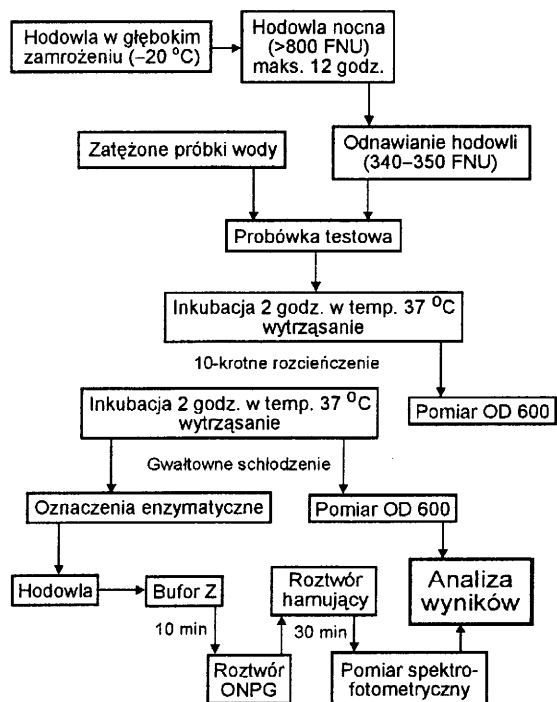
16 mm wynosiła 20 cm^3 (6 gsm). Jednorazowo przez układ kolumn sączono 10 dm^3 wody (ok. 16 objętości złoża w ciągu godziny). Po zakończonej adsorpcji złożo wysuszone, a następnie osadzone na żywicach zanieczyszczenia wymyto metanolem o objętości 60 cm^3 w czasie 2+3 godzin. Ekstrakty metanolowe z kolumn XAD16 i XAD7 połączono i wysuszone w temperaturze 4°C . Suchą pozostałość rozpuszczono w 500 μl DMSO przy pomocy ultradźwięków, rozdzielono i przeniesiono do probówek testowych. Nominalna różnica między kolejnymi probówkami wynosiła 200 cm^3 natywej próbki wody, a zakres badanych objętości – 200+1000 cm^3 .

Procedura testu

Do probówek testowych z roztworem zaadsorbowanych związków (50 μl) wprowadzono 615 μl wody jałowej redestylowanej i 75 μl stężonego 10-krotnie podłoża TGA i po dokładnym wymieszaniu 260 μl *inokulum* bakteryjnego. Wszystkie probówki testowe inkubowano następnie z wytrząsaniem w łaźni wodnej (amp. 6, cpm 160) przez 2 godziny w temperaturze 37°C . Po pierwszej inkubacji próby rozcieńczono 10-krotnie ciepłym podłożem TGA (temp. 37°C) i inkubowano ponownie przez 2 godziny. Po inkubacji próbki umieszczono w lodzie do czasu zakończenia oznaczeń enzymatycznych.

Oznaczenia enzymatyczne β -galaktozydazy

Aktywność β -galaktozydazy oznaczono w każdej próbce w trzech powtórzeniach. 200 μl hodowli z probówek testowych przenoszono do probówek zawierających 800 μl buforu Z i inkubowano statycznie przez 10 minut w temperaturze 28°C . Po dodaniu 200 μl roztworu ONPG (substrat dla β -galaktozydazy) reakcję enzymatyczną prowadzono 30 minut aż do dodania 800 μl roztworu hamującego. Pomiar spektrofotometryczny prowadzono najpóźniej w ciągu 1 godziny od zakończenia reakcji enzymatycznej przy długości fali 420 ± 20 nm. Schemat testu i oznaczeń enzymatycznych przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat testu UMU

Wskaźniki i wyliczenia

W celu oceny poziomu cytotoksyczności badanych ekstraktów w teście UMU prowadzono pomiar gęstości optycznej każdej próbki po 2 i 4 godzinach inkubacji. Wartość FNU poniżej 250 po pierwszym etapie inkubacji automatycznie dyskwalifikowała próbkę. Na podstawie gęstości optycznej hodowli po 4 godzinach inkubacji wyliczono właściwy wskaźnik cytotoksyczności, tj. współczynnik biomasy:

$$G = A600T/A600N \quad (1)$$

gdzie:

A600T – absorbancja hodowli w próbce testowej (600 ± 20 nm)
A600N – absorbancja hodowli w kontroli negatywnej (600 ± 20 nm)

Spadek wartości współczynnika G poniżej 0,5 dyskwalifikował próbkę, nawet w wypadku wzrostu poziomu aktywności β-galaktozydazy (zbyt duży efekt cytotoksyczny).

Ocenę poziomu aktywności β-galaktozydazy prowadzono w oparciu o względne jednostki aktywności enzymatycznej:

$$U_{BG} = A420T/A600T \quad (2)$$

gdzie:

A420T – absorbancja badanej próbki (420 ± 20 nm)

Poziom wzrostu aktywności β-galaktozydazy prezentowany jest w postaci jednostki bezwzględnej, tj. współczynnika indukcji:

$$IR = (A420T/A600T) \cdot (1/G) \quad (3)$$

gdzie:

A420N – absorbancja kontroli negatywnej (420 20 nm)

Wartość IR powyżej 1,5 świadczy o istotnej indukcji układu UmuC...LacZ (wynik pozytywny przy uzyskaniu zależności dawka–odpowiedź). Ostateczny wynik IR ±SD dla każdej z badanych próbek składał się z trzech różnych badań z trzema oznaczeniami enzymatycznymi w każdym z nich (n=9). Ponadto współczynnik koncentracji (k) definiuje ilość cm³ natywnej wody (przed zateżeniem przypadającą na 1 cm³ hodowli w testach).

Dyskusja wyników

Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 2. Istotną genotoksyczność uzyskano we wszystkich próbkach wody, dla których surowcem były wody powierzchniowe lub infiltracyjne. Nie odnotowano natomiast mutagenności w próbkach dezynfekowanej wody podziemnej ani w wodzie oligocieńskiej. Pomimo znacznego zróżnicowania badanych próbek pod względem jakości wody ujmowanej, sposobów jej uzdatniania i dezynfekcji, najwyższe wartości IR, przy najniższych współczynnikach koncentracji (200 i 400) uzyskano dla wód do picia, których źródłem były wody powierzchniowe i dla wody z sieci wodociągowej w Warszawie. Wodociągi warszawskie w znacznym stopniu korzystają z ujęć powierzchniowych, jednak udział poszczególnych rodzajów wody ujmowanej (infiltracyjna, powierzchniowa) jest bardzo trudny do oszacowania.

Próbki D, E i F, ze względu na laboratoryjnie przeprowadzoną dezynfekcję, nie mogą stanowić punktu odniesienia w stosunku do pozostałych próbek. Zastosowanie filtrów węglowych (próbki E, F) pełniących rolę złoża biologicznego znacznie obniżyło poziom genotoksyczności wody po dezynfekcji, w porównaniu do wody po filtrach piaskowych (próbka D).

Tabela 2. Porównanie genotoksyczności próbek wody w teście UMU

Symbol próbki	Min. współczynnik k o podwojonej aktywności β-galaktozydazy (IR>1,5 ±SD)	Współczynnik biomasy G ±SD	Zakres maks. wsp. k o podwojonej aktywności β-galaktozydazy (IR>1,5 ±SD; G>0,5)
A	200 3,33 ±0,23	0,59 ±0,14	400* 4,52 ±0,2
B	400 1,63 ±0,2	1,12 ±0,1	800* 2,87 ±0,12
C	400 1,78 ±0,20	0,86 ±0,2	600 2,74 ±0,62
D	200 1,86 ±0,26	0,46 ±0,2	nie uzyskano
E	200 1,86 ±0,15	0,82 ±0,11	800* 5,08 ±0,12
F	200 1,69 ±0,26	0,88 ±0,12	800* 2,45 ±0,32
G	Nie uzyskano istotnej aktywności		
H	Nie uzyskano istotnej aktywności		
I	400 2,67 ±0,26	0,64 ±0,2	800 2,92 ±0,32
J	200 1,81 ±0,26	0,94 ±0,12	800 3,09 ±0,32
K	200 2,56 ±0,12	0,8 ±0,11	600 7,10 ±0,12
L	200 2,13 ±0,22	0,82 ±0,3	400* 2,65 ±0,2
M	Nie uzyskano istotnej aktywności		

*nie stwierdzono w danej próbce wody, w badanym zakresie 0+1000 cm³, spadku wartości współczynnika G poniżej 0,5

– kontrola pozytywna – 50 ng 4 NQNO/cm³ hodowli; IR=2,98 ±0,2, G=0,68 ±0,15

– kontrola negatywna (zerowa) 50 μl DMSO/cm³ hodowli; IR=1,12 ±0,19, G=0,91 ±0,19

– kontrola negatywna – 50 μl woda redestylowana jałowa na 1 cm³ hodowli;

IR=1,1 ±0,18, G=0,96 ±0,29

– kontrola metanolu i żywicy – negatywne, liczba powtórzeń n=9

Pomimo kilkuletniej eksploatacji filtru węglowego, poziom genotoksyczności próbki E nie odbiegał w istotnym stopniu od uzyskanego dla próbki F (filtr po okresie rozruchu). Jednak konieczność zastosowania w procesie dezynfekcji chloru gazowego – obok dwutlenku chloru – w wypadku próbki E może świadczyć o wprowadzeniu do wody wtórnych zanieczyszczeń organicznych (zwiększone zapotrzebowanie na dezynfektant) w postaci metabolitów bakteryjnych. Jednak konwersja związków organicznych w biofilmie bakteryjnym nie prowadziła do powstania bezpośrednich mutagenów.

Zastosowany do zateżania związków organicznych system oparty o żywice Amberlite praktycznie eliminował możliwość oceny genotoksyczności związków lotnych [9]. Uzyskane istotne poziomy mutagenności w zdecydowanej większości próbek wód dezynfekowanych sugerują, że za genotoksyczność organicznych zanieczyszczeń wody odpowiada przede wszystkim grupa zanieczyszczeń nielotnych [9]. Podobne wyniki uzyskano stosując kosztowny i bardzo pracochłonny test Ames, a także testy rzadziej wykorzystywane i wychodzące z użycia, takie jak *Induct test* [13], *Rec test* [7], *SOS Chromotest* [12] czy test fluktuacyjny [10]. Poza tym większość związków lotnych powstających podczas dezynfekcji wody – uznanych za potencjalne kancerogeny – nie wykazywała genotoksyczności w *skriningu* bakteryjnym. W większości przebadanych próbek wody genotoksyczność została określona już na poziomie k=200, dlatego też dla uzyskania pełnego obrazu liniowej zależności dawka–odpowiedź, minimalna dawka powinna być ustalona na poziomie k=100.

Ze względu na zabarwienie ekstraktów metanolowych (kolor ciemnożółty), porównywanie genotoksyczności poszczególnych próbek powinno być prowadzone w oparciu o najmniejszą efektywną dawkę (w proponowanej normie ISO jest to LID – najmniejsze nieefektywne rozcieńczenie). Umożliwi

to zastosowanie realnie najmniejszych zateżeń wody i ograniczy potencjalne zmiany w składzie ekstraktów metanolo- wych. Zminimalizowany zostanie także wpływ zabarwienia hodowli na odczyt spektrofotometryczny po reakcji enzyma- tycznej β -galaktozydazy.

Podsumowanie

Zastosowany do badań wody test UMU wydaje się być praktycznym narzędziem w ocenie potencjalnych zagrożeń związanych z organicznymi zanieczyszczeniami wody do pi- cia. Uzyskanie istotnych różnic pomiędzy kolejnymi próbkami o nominalnej różnicy 200 cm^3 świadczy o dużej czułości, a potwierdzona wysoka odporność na działanie związków toksycznych decyduje o szerokim zakresie możliwych do badania objętości wody. Znaczącym atutem jest także po- twierdzona wysoka korelacja pomiędzy genotoksycznością związków badanych w tym teście i ich kancerogennością.

LITERATURA

1. B. N. AMES, J. McCANN, E. YAMASAKI: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian microso- ma mutagenicity test. *Mutation Research*, 1975, 31, pp. 347–356.
2. H. CZECZOT, I. RAHDEN-STAROŃ: Wybrane krótkoterminowe testy bakteryjne i na organizmach eukaryotycznych, stosowane do oceny genotoksyczności środowiskowych zanieczyszczeń chemicz- nych. *Roczniki PZH*, 1997, 48, ss. 317–336.
3. M. FIELDRING, H. HORTH: Formation of mutagens and chemicals during drinking water treatment chlorination. *Wat. Supply*, 1986, 4, pp. 103–126.
4. R. FORSTER, I. WILSON: The application of mutagenicity testing to drinking water. *Journal Inst. Wat. Eng. Scient.*, 1981, 35, pp. 259–274.
5. IARC Monograph of the evaluation of carcinogenic risks to hu- mans. Chlorinated drinking water; chlorination by-products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds. 1991, Vol. 52.
6. D. P. JOSEPHY, P. GRUZ, T. NOHMI: Recent advances in the construction of bacterial genotoxicity assays. *Mutation Research*, 1997, 386, pp. 1–23.
7. T. KADA, M. MORIJA, Y. SHIRASU: Screening of pesticides of DNA interactions by REC-assay and mutagenic testing and frameshift mutarens detected. *Mutation Research*, 26, pp. 243–247.
8. D. MARON, B. N. AMES: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, 1983, pp. 173–212.
9. J. R. MEIER: Genotoxic activity of organic chemicals in drinking water. *Mutation Research*, 1988, 196, pp. 211–245.
10. S. MONARCA, R. PASQUINI, P. ARCALENI: Detection of muta- gens in unconcentrated and concentrated drinking water supplies before and after treatment using a microscale fluctuation test. *Chemo- sphere*, 1985, pp. 1069–1080.
11. Y. ODA, S. NAKAMURA, I. OKI, T. KATO, H. SHINAGAWA: Evalu- ation of the new system (umu-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. *Mutation Research*, 1985, 147, pp. 219–229.
12. T. PODSIADŁY: Genotoksyczność organicznych zanieczyszczeń wody pitnej. *Informacja INSTAL*, 1999, 5, ss. 23–25.
13. T. PODSIADŁY: Genotoksyczność wody pitnej – perspektywy skri- ningu bakteryjnego. *Mat. konf. „Zagadnienia medycyny środowisko- wej”*, PZH, Warszawa 1997.
14. T. PODSIADŁY, A. KROGULSKI, M. BORKOWSKA, A. STRUSIŃ- SKI: Zastosowanie testu UMU w badaniach genotoksyczności zanieczy- szczeń wody. *Mat. konf. „Monitoring środowiska”*, 1998, ss. 591–602.
15. P. QUILLARDET, M. HOFNUNG: The SOS chromotest, a colorime- tric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Research*, 1985, 147, pp. 65–78.
16. P. QUILLARDET, M. HOFNUNG: The SOS chromotest: a review. *Mutation Research*, 1993, 297, pp. 235–279.
17. P. QUILLARDET, C. BELLACOMBE, M. HOFNUNG: The SOS chromotest, a colorimetric assays for genotoxins: validation study with 83 compounds. *Mutation Research*, 1985, 147, pp. 79–95.
18. J. TUOMISTO, T. VARTIANINEN: Genotoxicity of drinking waters. Complex mixtures and cancer risk. 1990, pp. 307–313.
19. W. WEN-ZONG, W. KUNG-FU, J. STEWART, T. ONG: Validation of the SOS/Umu test with mutagenic mixtures. *Mutation Research*, 1986, 175, pp. 139–144.
20. A. P. WHITE, J. B. RASSMUSSEN, C. BLAISE: A semi-automated microplate version of the SOS chromotest for the analysis of complex environmental extracts. *Mutation Research*, 1996, 360, pp. 51–74.
21. WHO: IPCS, summary report on the evaluation of short-term tests for carcinogens (collaborative study on in vivo tests). *Environmental Health Criteria*, 1990, 109.

Genotoxicity of Drinking Water from Some Supply Systems in Poland

The ever increasing degradation of water sources, as well as the concomitant need of applying chemical disinfectants, has directed the attention of scientists and engineers to the problem of long-term exposure of human organisms to water pollutants with health hazard potential. Considering the specific physico-chemical properties of water, epidemiological studies or long-term experiments on animals are useless. For this reason, our knowledge of the potential mutagenicity of organic water pol- lutants is based primarily on bacterial screening tests, such as the UMU test or the Ames test. The need of unifying the investi- gations into the mutagenicity of water gave a spur to DIN and ISO to attempt standardization of the two screening tests men- tioned above. For the purpose of the present study, use was made of the Tube UMU test (which resembles the UMU microtest

proposed by ISO) to evaluate the genotoxicity of water. The samples under test came from waterworks of choice (which use different treatment methods and different types of water intake), from the water-pipe network, and from oligocenic wells. The present study substantiates the utility of the UMU test in evalu- ating routinely the genotoxicity of drinking water. Significant genotoxicity levels were detected in the majority of disinfected water samples, and they were found to vary according to the type of intake. More advanced treatment trains (for example those involving carbon beds) bring about a substantial abate- ment of mutagenicity in drinking water. The genotoxicity of the disinfected water samples should be attributed to a group of non-volatile pollutants.