

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2014.02.005

抗生素抗性基因在典型行业和市政污水中的 污染特征及消减研究进展*

翟文超¹ 罗义^{1**} 赵静¹ 毛大庆²

(1. 南开大学环境科学与工程学院, 教育部环境污染过程与基准重点实验室, 天津, 300071;

2. 天津大学环境科学与工程学院, 天津, 300072)

摘要 抗生素在养殖、制药及医疗卫生行业中的广泛使用导致环境中的抗性细菌(Antibiotic resistance bacteria, ARB)及抗性基因(Antibiotic resistance genes, ARGs)浓度日益增加,甚至已经威胁到人体健康. 本文在总结大量文献的基础上,阐述了ARB和ARGs在抗生素典型行业(包括养殖业、制药业和医疗卫生业)和市政污水中的污染特征,重点介绍了污水处理系统(Wastewater treatment plants, WWTPs)不同处理工艺对抗性细菌和抗性基因消长的影响及机制,最后针对污水处理系统中抗性基因的消减提出了新的见解,并对今后研究方向进行了展望.

关键词 抗生素, 抗生素抗性基因, 行业废水, 市政污水, 污水处理工艺.

Advance research on the pollution characteristics and reduction of antibiotic resistance genes in the typical industries and municipal sewage treatment systems

ZHAI Wenchao¹ LUO Yi^{1**} ZHAO Jing¹ MAO Daqing²

(1. Ministry of Education Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria,

College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin, 300071, China;

2. College of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin, 300072, China)

Abstract: The widely use of antibiotics in the aquaculture, pharmaceutical and health care industry results in the increasing antibiotic resistance bacteria(ARB) and antibiotic resistance genes(ARGs) in the environment, even threatens human health. On the basis of previous literatures, this article summarizes the ARB and ARGs pollution characteristics of typical industries that produce and use antibiotics(include animal husbandry, pharmaceutical industry and medicine) and municipal wastewater. The treatment technologies which may possibly influence the growth and decline of ARGs and ARB in different treatment units of wastewater treatment plants(WWTPs) are mainly discussed. In the end, a perspective was made on how to eliminate the ARGs in the effluent of the WWTPs.

Keywords: antibiotics, antibiotic resistance genes, industry wastewater, municipal wastewater, wastewater treatment process.

抗生素滥用造成抗性基因的环境污染问题已经引起全球的高度关注,环境中抗生素抗性基因的产生和传播扩散已经成为一个备受瞩目的公共安全问题. 研究发现,细菌能够通过基因突变,表达自身潜在抗性基因,或者通过抗性基因的水平转移获得抗性^[1]. 一旦微生物获得了某种抗性基因,它们能够通过基因的转化、转导、接合等方式在环境中进行传播扩散. 目前,抗性基因已在我国以及其他国家的地表

2013年7月20日收稿.

* 国家环保公益项目(201309031);国家自然科学基金项目(21277075, 31170472);教育部“新世纪”优秀人才支持计划(NCET-11-0254)资助.

** 通讯联系人, Tel: 18630997599; E-mail: luoyi@nankai.edu.cn

水及沉积物^[2-3]、污水处理系统进出水^[4]、养殖厂废水及附近纳污水体^[5]、医疗制药废水甚至饮用水^[10-11]中被广泛检出。

养殖、制药和医疗行业是抗生素生产和使用的典型行业。由于兽药抗生素具有防治动物疫病、促进生长的双重功效,所以养殖业中抗生素以亚治疗剂量被长期添加于动物饲料中^[12]。我国每年约有6000吨兽用抗生素用于畜禽饲料添加剂,占全球抗生素饲料添加剂使用量的50%。抗生素在畜牧养殖的猪、牛等以及水产养殖的鱼、虾等动物体内筛选出耐药菌,然后通过废物排泄与环境土著细菌之间进行传播扩散,造成养殖区域及周围环境抗性基因污染^[13-14]。我国制药业发展迅速,越来越多的抗生素品种被研发并投入生产使用,2009年中国抗生素原料药产量达14.7万吨,位居世界第一。在抗生素生产过程中,大量的抗生素残留进入生产废水,筛选出抗性基因随废水排放进入受纳水体。我国医用抗生素使用量一直位居世界领先地位。抗性基因一旦传播到人致病菌上将引发恶性、突发性公共健康事件^[15]。全球范围内已爆发多起因携带抗性基因的超级细菌感染导致的恶性死亡事件^[16]。2012年4月24日我国卫生部发布《抗菌药物临床应用管理办法》,明确规定严格控制使用抗菌类药物。因此对养殖、制药及医疗行业中抗性细菌及抗性基因污染特征及消减的研究十分必要。

本文在总结近几年文献的基础上,阐述了与抗生素生产及使用密切相关的养殖、制药及医疗卫生行业中抗性细菌及抗性基因的污染特征及其研究进展,结合污水处理系统中不同污水处理单元,综述了不同污水处理工艺对抗性细菌及抗性基因消长的影响及其机理,在此基础上探讨了如何在污水处理系统针对抗性基因污染进行消减。

1 抗性细菌及抗性基因在行业及市政污水中的污染特征

1.1 养殖业中抗性细菌及抗性基因的污染特征

越来越多的证据表明养殖业抗生素的使用能影响人体病原菌的抗生素抗性^[17-21]。而养殖业中抗性细菌及抗性基因多数通过养殖废水、畜禽粪便和养殖场周边的空气向周围环境进行传播扩散。

养殖废水中抗性细菌及抗性基因的检出已非常普遍,尤其以四环素类、磺胺类及喹诺酮类抗性基因的检出频率最高,这与这几类抗生素在养殖业的大量使用密切相关。研究发现养殖废水中抗性基因的含量与饲养过程中抗生素的使用有关,且废水中抗性基因的浓度有显著的季节特征^[22-27]。Peak等^[28]在调查美国中西部养殖场废水时发现,大量使用抗生素的养殖废水中四环素抗性基因数量(2.8×10^6 copies·mL⁻¹)显著高于不使用抗生素的废水(5.1×10^3 copies·mL⁻¹),秋季抗性基因含量是夏季的10—100倍。对美国不同地区养牛场废水的研究发现,四环素抗性基因 *tetO*、*tetQ*、*tetW* 等广泛存在于养殖废水中^[27]。Pei等^[18]在饲养场中还检测到了磺胺类抗性基因 *sul1* 和 *sul2* 及大环内酯类抗性基因 *ereA* 等,研究表明养殖废水的排放已经对周边纳污水体构成污染。Sanford等^[23]在养猪场周边地下水及下游250 m自然水体中均检测出四环素类抗性基因 *tetO*、*tetQ*、*tetW* 等。Koike等^[24]在养猪场附近地下水中也检测出 *tetO*、*tetW* 等四环素抗性基因。与国外研究相似,国内相关研究也表明磺胺类、四环素及喹诺酮类等养殖业常用抗生素对应的抗性基因普遍存在于养殖废水中,而且浓度高于美国养殖废水^[29]。例如,Mckinney等^[29]发现美国某养猪场废水中四环素抗性基因 *tetO* 的浓度在 5.6×10^4 — 7.8×10^7 copies·mL⁻¹之间,某养鸡场中 *tetO* 浓度在 3.5×10^3 — 6.3×10^8 copies·mL⁻¹之间,低于中国普遍高浓度抗性水平。冀秀玲等^[22]检测了黄浦江水域的两个大规模养殖场内污水贮流池中抗性基因的含量,有7种四环素类及4种磺胺类被检出,且磺胺类抗性基因相对表达量高于四环素类抗性基因。与国外略有不同,国内养殖业中喹诺酮类抗性基因同样以高浓度水平广泛存在于养殖场废水中。例如,Li等^[23]在北京3个地区的养猪场废水中检测出喹诺酮类抗性基因 *qnrD*、*qepA*、*oqxB* 等,平均浓度在 1.66×10^7 — 4.06×10^8 copies·mL⁻¹之间。

畜禽粪便是养殖业抗性细菌及抗性基因向农田土壤传播扩散的重要途径,抗性基因通过粪便施肥传播给土著细菌甚至农作物^[30-31],直接影响农产品质量安全,并通过食物链威胁人体健康。研究在畜禽粪便和尿液中检测出包括对链霉素、脱氧土霉素及氯霉素等抗生素具有抗性的抗性细菌以及 *cat*、*sul* 和 *tet* 等多种抗性基因^[26,32]。粪便施用于农田后造成农田土壤中抗性基因的污染。Sanford等^[23]在养猪场土壤菌落中检出抗性基因的存在。Jensen等^[33]研究了土壤施用养殖粪便前后抗性菌群的变化,结果表明粪便施肥是抗性细菌进入土壤环境及诱导土著细菌产生抗性的重要方式。Schmitt等^[32]采用室内模拟

及现场采样调研对比的方式进一步验证了粪便施肥是影响土壤中抗性基因丰度的重要因素. 此外农作物食品领域的研究人员已经在肉制品及新鲜果蔬中检测出抗性基因^[13], 例如 Johnston 等^[33] 在美国西南部蔬菜中检测出四环素、环丙沙星等抗生素抗性细菌.

研究人员在大规模养殖场空气中也检测出具有多重抗性的微生物. Chapin 和 Sapkota 等均在养猪场室内空气中检测出气生革兰氏阳性菌对大环内酯类、四环素类等抗生素的高水平多药物抗性^[34-35]. Gibbs 等^[36] 在养猪场及其下风区的空气中检测出大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等细菌对四环素、红霉素等多种抗生素的抗性. 因此抗性细菌和抗性基因已经通过增殖扩散传播到养殖环境的各种介质中^[13].

此外,在水产养殖场水体、经济鱼类及其他海产品中的抗性细菌及抗性基因存在也增加了抗性基因向人体传播扩散的潜在风险^[37-38]. 目前国内外大量研究在全球不同地区水产养殖场中均检测出四环素类、磺胺类及氯霉素类等抗性基因型的普遍存在. 例如,国内 Gao 等^[39] 在天津 6 家养鱼场中检测出磺胺类及四环素类抗性基因. Dang 等^[40] 在中国北部一海洋生物养殖场中检测出具有氯霉素及多重抗性的抗性细菌,其中 65% 的海参中具有氯霉素抗性基因 *catIV* 或 *catII*, 35% 的海胆中具有 *catII*. 且所有氯霉素抗性生物中还携带一到两种 *tet* 抗性基因. 此外,在日本和韩国沿海水产养殖场的海水中均检测出四环素抗性基因 *tetM* 和 *tetS*. 越南北部的养鱼池和养虾池中也发现了磺胺类抗性基因 *sul1*、*sul2* 和 *sul3*^[41-42]. Akinbowale 等^[43] 检测了澳大利亚一家水产养殖场中的四环素抗性基因,结果显示 19% 的菌株具有氧四环素抗性,而 42% 抗性菌株的抗性基因能够通过 R 质粒转移到大肠杆菌中,进而由食物链转移到鸡、猪等家禽家畜甚至人体内.

综上所述,由于磺胺类、四环素类、喹诺酮类及氯霉素等抗生素被广泛用于养殖饲料添加剂,其相关的抗性基因因而在养殖业中被广泛检出. 而由于使用抗生素种类不同,其抗性基因型与制药、医疗等其他使用抗生素的典型行业略有不同. 此外,由于国内与国外在养殖业中抗生素添加剂的种类与用量不同,导致养殖废水及周边环境中抗性基因的污染特征也略有不同,总体来说,国内养殖环境中抗性基因的浓度普遍高于国外水平.

1.2 制药业中抗性细菌及抗性基因的污染特征

很多高能耗、高污染的抗生素制药企业在生产过程中产生大量污染废液,含有高浓度的抗生素残留^[44],经生化处理后容易产生抗性基因污染问题. 研究表明制药废水中的抗生素残留构成对抗性细菌及抗性基因的选择性压力,造成制药废水出水中抗性细菌及抗性基因的含量高于市政污水处理系统出水及非抗生素生产企业处理出水^[10,45]. Liu 等^[46] 发现河北省某四环素制药废水处理系统出水中四环素抗性基因的含量比普通污水处理系统或非抗生素生产废水处理系统出水高出 1 到 4 个数量级. Guardabassi 等^[47] 检测一家制药厂污水排放口上游和下游中不动杆菌的抗生素抗性后,发现制药厂排水能够促进外排环境中单一及多重抗生素抗性细菌的增加. 刘苗苗等^[11] 发现土霉素制药废水出水能改变纳污河流中微生物群落结构,使四环素抗性基因的宿主细菌数量显著增加,并且废水处理系统排放口下游 *tetL*、*tetW* 和 *tetX* 的相对丰度也显著高出上游对照断面. Deng 等^[48] 也发现链霉素制药废水中微生物群落结构随着抗生素浓度不同而改变,因为高浓度抗生素水平下,废水处理系统中的微生物会通过调整细菌、古生菌、真核生物等微生物群落结构来维持系统稳定.

目前,研究发现抗生素制药废水中相应抗性基因浓度显著高于其他行业废水,且出水对受纳水体中微生物群落产生重要影响. 而对不同种类抗生素生产企业废水之间各种抗性基因浓度的比较研究还有待进一步深化.

1.3 医疗卫生行业中抗性细菌及抗性基因的污染特征

目前世界各国生产和应用于医疗业的抗生素大约有 120 种,其中以青霉素类、头孢菌素类、四环素类、氨基糖苷类和大环内酯类最多,而相应的抗性基因也普遍存在于医疗卫生环境中. Koningstein 曾指出人体抗性的产生将会潜在性削弱疾病的治疗效果^[49]. 而近期流行病研究结果表明,抗性基因在人体中的产生及传播扩散将会导致细菌疾病超额死亡率增加,临床疾病持续时间延长及入侵式传染性疾病爆发几率提高等负面影响^[20,49].

医用抗生素首先在人体内诱导出抗性菌株,这些抗性基因随粪便菌群排出体外,进入医疗废水. 而医疗废水中含有大量的病原细菌、病毒等,具有急性传染和潜伏性传染的特征^[27],是危害群众健康的一

个“源头”。Heuer 等^[51]在比利时布鲁塞尔医院废水中发现编码 β -内酰胺类和庆大霉素的抗性基因。研究人员在美国和丹麦的医院废水中也均检测出多重抗性的大肠杆菌,甚至携带致病基因的抗性细菌^[51-52]。Leclercq 等^[53]在美国一养老院医疗院废水出水接纳河流下游检测出大环内酯类抗性基因 *ermB* 和 *mefA* 及四环素类抗性基因 *tetM*。Kotzamanidis 等^[54]在希腊 16 家医院出水中检测出高水平万古霉素抗性基因。因此医疗废水中的抗性基因是城市污水处理系统中抗性细菌及抗性基因的重要来源。

在医院的室内空气中也检测出抗性细菌及抗性基因的存在。例如,Huang 等^[55]在伊拉克一家医院的空气中检测出氨基糖苷类、 β -内酰胺类、四环素类等抗性质粒。Korzeniewska 等^[56]同样在医院空气样品中检测出大肠杆菌对 β -内酰胺类和其他药物的抗生素抗性,且抗性水平高于外界环境空气样品。

根据以上研究发现,医疗卫生行业中检测出的抗生素抗性基因种类多以人用抗生素对应的抗性基因种类为主,例如, β -内酰胺类、氨基糖苷类、大环内酯类等。这与养殖环境中检测出高浓度磺胺类、四环素类等多为兽用抗生素抗性基因型有较大差异。而相比于国外,国内对医疗卫生行业抗性基因的关注较少,随着医疗业中抗性基因危害的日益显著,对其抗性水平的检测与控制将刻不容缓。

1.4 市政污水中抗性细菌及抗性基因的污染特征

市政污水处理系统接收来自居民生活、工业生产、医疗卫生等各方面的废水^[57],是各种抗生素及其他污染物聚集的“汇”,而这些污染物及抗性细菌、抗性基因在进入市政污水时伴有一定的稀释过程,因此,研究发现市政污水处理系统中的抗性基因种类普遍高于行业废水,而浓度低于行业废水^[58-59]。

国内外研究均发现市政污水出水有一定浓度水平的抗性细菌及抗性基因存在。Huang 等^[60]在国内一家市政污水处理系统二级出水中检测出多种抗性肠球菌。Korzeniewska 等^[61]研究发现污水处理出水中大量抗性肠球菌存在,并随出水进入环境。da Costa 等^[62]也发现污水处理厂不可避免地将抗性肠球菌释放到环境中,其中多药物抗性比率达到 49.9%。

市政污水处理系统中抗性基因通过出水及污泥排放到接纳环境,造成接纳环境抗性基因污染^[63]。Eric 等^[64]研究发现污水处理系统的出水比湖泊水中含有更高浓度的四环素抗性基因。Pei 等^[65]发现市政污水处理厂下游河流断面相对于上游含有更高水平的 *tetW* 和 *tetO* 抗性基因。

此外,研究人员还发现市政污水处理系统中的微生物抗性水平与污水中的抗生素、重金属及有机溶剂等环境选择压力密切相关^[18,46,64]。Liu 等^[66]发现相对于普通污水处理系统,抗生素生产废水处理系统出水中四环素抗性基因的含量更高。近期研究发现污水中的金属离子及有机溶剂等也是抗性基因的重要诱导剂^[65-67]。Peltier 等^[68]的研究表明用亚毒性的锌进行前暴露或与抗生素共同暴露能够使污水中微生物对泰乐菌素、氧四环素等抗生素的抗性水平增加。

养殖、制药、医疗行业及生活污水中抗性细菌及抗性基因进入环境不同介质中的污染途径如图 1 所示。部分文献中列出的典型行业废水及市政污水中抗性基因的污染特征参见表 1。

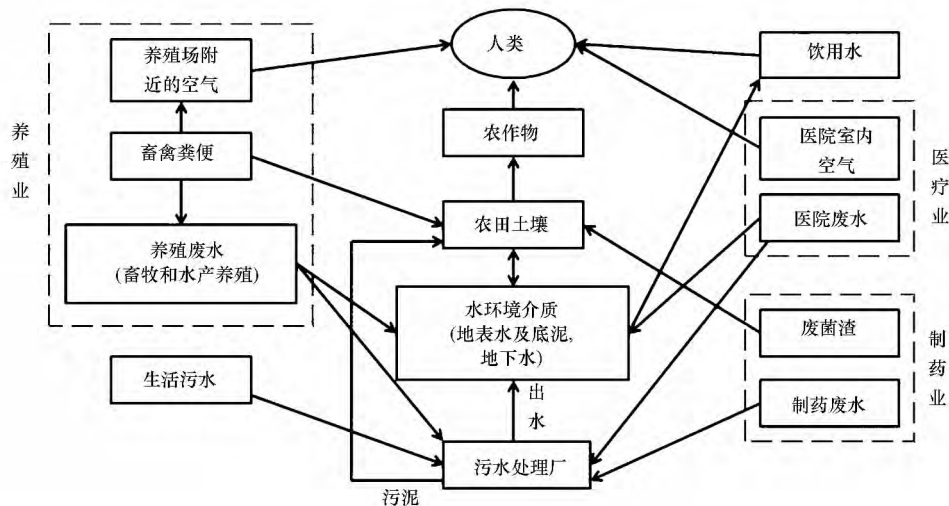


图 1 养殖、制药、医疗业及生活污水中 ARB 和 ARGs 进入环境中的污染途径

Fig.1 Pollutant pathways of the ARB and ARGs entering the environment in aquaculture, pharmacy, healthcare and domestic wastewater

表 1 典型行业废水及市政污水中抗性基因的污染特征

Table 1 ARGs pollution characteristics of typical industries and municipal wastewater

样品来源	单位	ARGs 基因型	污水贮流池浓度		进水浓度	出水浓度	文献
畜牧养殖废水	(gene copies) · (16S rRNA gene) ⁻¹		猪场污水	牛场污水			
		<i>sul</i> (I)	3.4×10^{-4}	6.898×10^{-2}			
		<i>sul</i> (II)	2.4×10^{-4}	1.9469×10^{-2}			
		<i>sul</i> (III)	2.36×10^{-3}	3.94×10^{-3}			
		<i>sul</i> (A)	6.98×10^{-3}	1.61×10^{-3}			[22]
		<i>tet</i> (M)	1.63×10^{-5}	1.38×10^{-3}			
		<i>tet</i> (O)	1.19×10^{-5}	5.80×10^{-5}			
		<i>tet</i> (W)	3.0×10^{-4}	4.8×10^{-4}			
		<i>tetB</i> (P)	3.69×10^{-8}	2.54×10^{-5}			
	copies·mL ⁻¹	<i>qnrD</i>	5.23×10^6 — 3.14×10^7				
		<i>oqx</i> B	4.71×10^5 — 2.61×10^8				
		<i>qep</i> A	2.53×10^6 — 9.64×10^7				[25]
		<i>qnr</i> S	ND— 3.44×10^7				
		<i>oqx</i> A	ND— 2.02×10^6				
	copies·mL ⁻¹	<i>cml</i> A	6.38×10^4 — 1.12×10^6				
		<i>flo</i> R	8.69×10^4 — 1.11×10^6				
		<i>fex</i> A	3.30×10^4 — 1.63×10^6				[68]
		<i>cfr</i>	7.19×10^4 — 1.25×10^6				
		<i>fex</i> B	7.92×10^4 — 1.57×10^6				
	copies·mL ⁻¹	<i>tet</i> O	5.6×10^4 — 7.8×10^7				[29]
			3.5×10^3 — 6.3×10^8				
水产养殖废水	(gene copies) · (16S rRNA gene) ⁻¹	<i>sul</i> (I)	3.0×10^{-5} — 3.3×10^{-4}				
		<i>sul</i> (II)	2.0×10^{-4} — 1.8×10^{-3}				
		<i>tet</i> (M)	10^{-6} — 10^{-4}				[39]
		<i>tet</i> (T)	2.1323×10^{-7} — 3.0864×10^{-6}				
		<i>tet</i> (W)	1.1182×10^{-5} — 4.3579×10^{-4}				
医疗废水	copies·μg(DNA) ⁻¹		CityA	CityB	CityC		
		<i>amp</i> C	1.5×10^5	1.8×10^4	1.8×10^4		[69]
		<i>van</i> A	3.3×10^3	—	9.0×10^3		
		<i>bla</i> _{vim}	4.9×10^5	2.3×10^2	9.0×10^1		
制药废水	(gene copies) · (16S rRNA gene) ⁻¹	<i>tet</i> (A)				1.5×10^{-1} — 1.7	
		<i>tet</i> (C)				7.2×10^{-2} — 3.3×10^{-1}	
		<i>tet</i> (G)				1.9×10^{-1} — 2.5×10^{-1}	
		<i>tet</i> (L)				6.6×10^{-5} — 2.4×10^{-2}	
		<i>tet</i> (M)				1.3×10^{-3} — 8.5×10^{-3}	[45]
		<i>tet</i> (O)				5.7×10^{-4} — 1.8×10^{-3}	
		<i>tet</i> (Q)				1.2×10^{-3} — 3.6×10^{-2}	
		<i>tet</i> (W)				8.1×10^{-4} — 9.9×10^{-3}	
		<i>tet</i> (X)				3.7×10^{-4} — 9.5×10^{-2}	
	copies·mL ⁻¹	<i>tet</i> (W)				1.7×10^{-5} — 4.8×10^{-5}	[10]
		<i>tet</i> (L)				1.4×10^{-3} — 8.4×10^{-3}	
	copies·mL ⁻¹	<i>tet</i> (C)			1×10^8 — 3×10^8	ND— 1.72×10^4	[57]
		<i>tet</i> (A)			10^7 — 10^8	ND— 2.51×10^4	
市政污水	copies·mL ⁻¹	<i>tet</i> G			$10^{5.7}$ — $10^{6.5}$	10^4 — $10^{6.1}$	
		<i>erm</i> B			$10^{5.8}$ — $10^{6.1}$	0— $10^{5.4}$	[70]
		<i>erm</i> X			$10^{3.8}$ — $10^{4.5}$	$10^{2.6}$ — $10^{4.7}$	
		<i>erm</i> F			$10^{6.9}$ — $10^{7.2}$	$10^{3.6}$ — $10^{6.7}$	

续表 1

样品来源	单位	ARGs 基因型	污水贮流池浓度	进水浓度	出水浓度	文献
市政污水	$(\text{gene copies}) \cdot (\text{16S rRNA gene})^{-1}$	<i>sul</i> (I)			8.0×10^{-1}	[1]
		<i>tetA</i>			3.2×10^{-1}	
		<i>tetG</i>			1.48×10^{-1}	
		<i>ermA</i>			1.0×10^{-4}	
		<i>ermB</i>			2.4×10^{-4}	
		<i>ampC</i>			5.0×10^{-6}	
		<i>aphA2</i>			3.0×10^{-4}	
		<i>bla_{TEM}</i> ⁻¹			6.0×10^{-3}	
		<i>sul</i> (I)		$10^{5.46}—10^{7.54}$	$10^{4.37}—10^{6.75}$	
		<i>tet</i> (O)		$10^{5.51}—10^{7.61}$	ND— $10^{3.96}$	
	$\text{copies} \cdot \text{mL}^{-1}$	<i>tet</i> (W)		$10^{5.37}—10^{7.4}$	ND— $10^{3.63}$	[7]

2 抗性细菌及抗性基因在废水处理系统中的消减

养殖、制药、医疗行业废水及居民生活污水都进入到市政污水处理系统中,因此城市污水处理系统成为抗生素抗性基因污染的“汇”^[2].不同污水处理工艺对抗性细菌及抗性基因的消长构成重要影响.以下结合污水处理系统全流程处理工艺,探讨抗性基因的消减.

2.1 一级处理单元对抗性细菌及抗性基因的消减

一级污水处理主要通过物理沉降去除颗粒状有机物,调节水质、水量、水温等,减轻后续生物处理的负担^[7],对污水中抗性细菌及抗性基因的影响甚微. Börjesson 等^[6]认为,以生物质量为参照,初沉池出水样品中抗性基因的浓度与进水相比有所降低,但降低程度不大,数量在 $10^{0.09}$ 到 $10^{0.55} \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间. Gao 等^[7]发现均质池和澄清池对 *tet* 和 *sul* 两种抗性基因的去除效果很小,均质池对抗性细菌及抗性基因没有消减作用,澄清池对四环素抗性基因的相对含量有微弱的影响,对磺胺类抗性基因的消减影响几乎可以忽略.

2.2 生化处理单元对抗性细菌及抗性基因的消减

目前全球城市污水处理系统有 90% 以上采用生物处理法^[7].然而,无论是活性污泥还是生物膜法,生化处理单元的高浓度微生物量恰恰为加速抗性细菌及抗性基因的传播扩散提供了有利条件.水中微生物可以在活性污泥或生物膜中获得编码抗性的质粒或其他可移动基因元件,同时细菌在抗性选择压力下通过基因突变,或表达潜在的抗性基因获得抗性,这大大加速了抗性基因在生化处理单元的传播扩散^[7].因此系统研究污水处理系统中不同工艺对抗性细菌及抗性基因的消长影响,为筛选合理有效的处理工艺消减抗性基因提供科学依据.

2.2.1 活性污泥法对抗性细菌和抗性基因的消减

(1) 传统的活性污泥法对抗性细菌和抗性基因的消减

研究认为活性污泥处理工艺对出水中抗性细菌及抗性基因有显著的消减作用,即活性污泥法能选择性减少污水中抗性基因.例如,2007 年 Eric 等^[1]检测了美国威斯康星州的两个以活性污泥法为主体工艺的污水处理系统中抗性基因的含量,发现废水经过活性污泥处理后,抗性基因的种类明显减少,出水中四环素抗性基因的含量少于进水. Zhang 等^[5]研究了香港、上海和加利福尼亚州 3 个城市的 5 个污水处理系统中四环素抗性基因在活性污泥系统中的消减情况,结果显示,四环素抗性基因 *tetC* 和 *tetA* 在出水中的浓度降低到 10^4 到 $10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间,比进水中减少 3 个数量级.同样 Gao 等^[7]发现,在传统的市政污水处理系统中污水经过好氧生物处理后,抗性细菌及抗性基因的浓度有显著降低的现象.

值得注意的是污水处理系统出水中抗性基因的减少并不是真正意义上的抗性基因去除,仅仅水中的抗性细菌通过吸附浓缩进入污泥,而通过污泥的处理及土地利用,抗性基因可能重新进入环境^[1,60,73].例如, Gao 等^[7]发现活性污泥处理过程中磺胺类抗性基因的减少率与总异养菌的减少率相同. Börjesson 等^[6]以 DNA 总量为参照,检测发现进出水中抗性基因 *mecA* 的相对量没有明显变化,他认为出水中抗性基因浓度的降低主要是源于活性污泥的吸附作用.由于污泥施肥农田是目前一种普遍的

污泥处理方式,抗性基因随污泥进入土壤生态系统,极有可能进一步从土壤微生物转移到植物体内,继而再随食物链迁移到人体和动物体内,影响人体健康.因此对污泥处理过程中抗性基因消减的研究十分必要^[74].

(2) 活性污泥法中的新工艺对抗性细菌和抗性基因的消减

由于传统的活性污泥法存在占地面积大、出水污染物浓度高等问题,一些活性污泥处理法的新工艺,针对传统的活性污泥反应器进行了优化改造,增加污水与活性污泥的有效接触.例如,间歇式活性污泥处理工艺(SBR)、AB法污水处理工艺、氧化沟等开始逐渐投入使用^[72].

研究表明缺氧/好氧工艺(A/O)、厌氧/缺氧/好氧工艺(A²/O)、间歇式活性污泥处理系统(SBR)等新型活性污泥处理工艺促进抗性基因在水处理系统中的传播扩散^[77-79],造成出水中抗性基因含量升高,甚至出水中出现原进水中不存在的抗性基因种类.主要因为这些工艺延长了污水在构筑物中的停留时间,促进了微生物新陈代谢功能,更利于抗性细菌在活性污泥处理系统中的增殖,从而加速抗性基因的传播扩散^[72].Zhang等^[77]研究了美国密歇根州一家以A/O为主体工艺的深度废水处理系统中的抗性细菌,结果显示出水中不动杆菌对利福平、氯霉素、阿莫西林和多种抗生素的抗性比率明显高于进水,如对利福平的抗性比率由63.1%增加到77.5%,对氯霉素的抗性比率由25.2%增加至35.0%等.Luczkiewicz等^[78]研究以A²/O为主体工艺的污水处理系统中进水和出水中大肠杆菌和肠球菌的抗生素抗性时,发现出水中大肠杆菌和肠球菌的抗性比率依然能够达到9%和29%.Fan等^[79]发现受抗生素选择压力的影响,在SBRs污水处理工艺的微生物菌群中筛选出进水中不存在的红霉素抗性基因*ereA*.

2.2.2 生物膜法对抗性细菌和抗性基因的消减

由于生物膜处理法中微生物附着载体生长,相对于活性污泥法,残留在出水中生物质的量较少,导致出水中抗性细菌及抗性基因的浓度也相对较低,因而生物膜法是消减污水出水中抗性细菌及抗性基因的有效处理工艺.Munir等^[71]对比生物膜法与活性污泥法出水中抗性基因浓度后发现,膜生物反应器比传统的活性污泥工艺更能显著减少出水中抗性基因.

2.3 深度处理对抗性细菌及抗性基因的消减

2.3.1 消毒对抗性细菌和抗性基因的消减

消毒工艺大致可分为游离氯、氯化铵、臭氧和紫外等方式^[72].各国之间的消毒方式差异很大,加氯消毒是全球主要的消毒方式^[80].美国超过半数的污水处理系统采用一种以上的消毒方式.而我国普遍应用单一消毒方式,主要是液氯、二氧化氯、紫外及臭氧等.

研究认为,消毒对减少污水中抗性有重要作用,不仅是因为它能够减少活的抗性细菌数量,而且能够有效抑制活性抗性细菌之间的基因转移,如果在适当的操作条件下,消毒是减少总抗性基因的一种潜在方式^[81].但是,也有观点认为消毒对抗性消减的效果依赖于消毒剂渗透到抗性细菌体内的程度,以及与细胞内各种成分(如氨基酸、脂肪、糖类和核酸等)的反应性能^[82].如果消毒剂导致细胞失活与核酸类物质无关,那么完整的抗性基因片段就可能残存在细胞碎片中,而且有机会通过转导或转化的方式转移到其他微生物体内^[83],反而导致抗性基因浓度水平升高.

(1) 加氯消毒对污水中抗性细菌及抗性基因的消减

加氯消毒由于操作简单且价格便宜的优点得到了广泛的应用,加氯消毒的种类有很多,包括游离氯(Cl₂)、氯化铵(NH₂Cl)和二氧化氯(ClO₂)等.

研究认为加氯消毒作为抗性细菌的一种选择压力,对污水中抗性基因的消减效果随着加氯剂量不同而变化^[84].Zhang^[57]发现加氯消毒能选择性破坏抗性基因*tetC*和*tetA*,减少其在污水中的浓度.Macauley等^[85]的研究表明当加氯量达到30 mg·L⁻¹时,废水中的细菌可以减少10^{2.2}到10^{3.4} cfu·mL⁻¹.但研究发现低浓度加氯消毒对污水中抗性的去除并不显著,甚至会引起抗性水平的增加^[11,73].总结以上研究发现,消毒剂量是影响抗性基因消减效果的重要因素,不同的CT值(消毒剂浓度与接触时间的乘积)可能导致不同的抗性基因消减效果,甚至出现截然相反的结果.Huang等^[81]通过对CT值的研究发现高浓度消毒剂是控制抗性细菌再生的有效方式.

(2) 紫外消毒对污水中抗性细菌及抗性基因的消减

研究认为,在所有消毒模式中,紫外消毒是消减污水中抗性细菌及抗性基因最有效的方式.紫外射

线能够光降解含有抗性基因的 DNA 片段,而其对 DNA 的破坏程度依赖于 DNA 对紫外发射光谱的接受程度^[73]。

紫外照射强度是影响消毒效果的重要因素。随着紫外照射强度的不同,其对污水中抗性细菌及抗性基因的去除效果有明显差异。因此各污水处理系统中紫外消毒工艺对污水中抗性基因的消减效果不同,甚至大相径庭。研究发现紫外消毒是一种有效抗性细菌及抗性基因消减工艺,能显著降低污水处理系统出水中抗性水平^[26,59,71]。也有研究发现紫外消毒对污水中抗性基因消减的影响甚微,甚至增加污水中的抗性水平。例如, Eric 等^[1]发现紫外消毒不能消减污水中所含的四环素抗性基因 *tetQ* 和 *tetG*。Zhang 等^[77]的研究显示经紫外消毒后,污水中不动杆菌对氯霉素、利福平及阿莫西林的抗性比率大幅度上升,且细菌的多重抗性也由 46.3% 升至 72.4%。因此,有效地控制紫外照射强度是减少污水中抗性水平的关键性因素。

(3) 臭氧(O_3) 消毒对抗性细菌及抗性基因的消减

相对于其他消毒方式,臭氧消毒的研究还较少,但研究显示高浓度的臭氧能够有效地去除污水中的抗性基因,且破坏抗性基因的臭氧浓度高出杀灭抗性细菌浓度 1 到 2 个数量级。Murat 等^[83]发现随臭氧剂量的增加,抗性基因 *tetM* 消减量逐渐增加。当臭氧剂量达到 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,细菌的失活数量在 $10^{3.3}$ 到 $10^{3.9}\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$ 之间^[1]。

2.3.2 高级氧化技术对抗性细菌和抗性基因的消减

高级氧化技术由于其催化效率高、处理效果好,作为一种新兴的环境友好型净化处理技术近几年备受关注。高级氧化技术主要通过物理或化学诱变破坏细菌 DNA 双螺旋结构,从而能有效减少出水中抗性基因含量^[82],是消减抗性基因的有效方法。研究发现,加入诱变剂(如 H_2O_2 和 KCN) 的化学诱变方法能够引起抗性细菌及抗性基因的消减,如 Murat 等^[83]发现 Fenton 试剂能减少 56.60% 的细菌,并且 *tetM* 含量随剂量增加而减少。Rizzo 等^[84]认为光催化能引起 DNA 构型改变从而消减抗性基因。

3 展望

污水处理系统作为抗性基因污染的“汇”,接纳各种来源包括养殖、制药及医疗卫生行业的污染排放,同时也作为“源”向地表水等受纳水体排放抗性基因污染。而至今国内外还没有针对抗性基因在污水处理系统的排放标准。本文在总结已有研究基础上,对未来抗性基因的研究提出几点建议:

(1) 关注抗性基因污染严重的优控行业(例如,养殖、制药及医疗卫生行业),从源头上减少抗性基因的传播扩散,实现对行业中抗性基因的有效控制。

(2) 面对抗性基因污染的严峻现状,需要建立行业废水以及市政污水抗性基因排放标准,结合有效处理工艺实现对抗性基因的有效控制。

(3) 传统的生物污水处理工艺对去除抗性基因效果不明显,即使出水中抗性基因浓度有所降低但大都转移到污泥中。而继生物处理之后的深度处理工艺,如各种消毒工艺、高级氧化工艺是消减污水处理系统出水中抗性基因的有效手段。因此,应适当地在生物处理单元后增加深度处理工艺,达到消减抗性细菌及抗性基因的效果。此外,应深入研究污水处理系统中抗性基因的增殖传播机理,致力于开发有效的抗性细菌及抗性基因的消减处理工艺。

参 考 文 献

- [1] Eric A, Erin E, Seyfried, et al. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants [J]. Water Res, 2007, 41(5): 1143-1151
- [2] Gunnarsdóttir R, Jenssen P, Jensen P, et al. A review of wastewater handling in the Arctic with special reference to pharmaceuticals and personal care products(PPCPs) and microbial pollution [J]. Ecol Eng, 2012, 50(SI): 76-85
- [3] Zou S C, Zhu C J, He Z M, et al. Preliminary studies on the pollution levels of antibiotic resistance genes in the water of Beijiang River, South China [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(5): 655-660
- [4] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, et al. Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China [J]. Environ Sci Technol, 2010, 44(19): 7220-7225
- [5] Tao R, Ying G G, Su H C, et al. Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in enterobacteriaceae isolated from the Pearl rivers in South China [J]. Environ Pollut, 2010, 158(6): 2101-2109

- [6] Henriques I, Moura A, Alves A, et al. Analysing diversity among β -lactamase encoding genes in aquatic environments [J]. FEMS Microbiol. Ecol, 2006, 56(3): 418-429
- [7] Ram S, Vajpayee P, Singh R L, et al. Surface water of a perennial river exhibits multi-antimicrobial resistant shiga toxin and entero-toxin producing *Escherichia coli* [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2009, 72(2): 490-495
- [8] David W G, Susana O R, Charles W K, et al. Antibiotic resistance gene abundances associated with waste discharges to the Almendares River near Havana, Cuba [J]. Environ Sci Technol, 2011, 45(2): 418-424
- [9] Volkmann H, Schwartz T, Bischoff P, et al. Detection of clinically relevant antibiotic-resistance genes in municipal wastewater using real-time PCR (TaqMan) [J]. J Microb Meth, 2004, 56(2): 277-286
- [10] 刘苗苗, 张昱, 李栋, 等. 制药废水受纳河流中四环素抗药基因及微生物群落结构变化研究 [J]. 环境科学学报, 2010, 30(8): 1551-1557
- [11] Shi P, Jia S Y, Zhang X X, et al. Metagenomic insight into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water [J]. Water Res, 2013, 47(1): 111-120
- [12] 李振, 王云建. 畜禽养殖中抗生素使用的现状、问题及对策 [J]. 中国动物保健, 2009, 7: 55-57
- [13] 王丽梅, 罗义, 毛大庆, 等. 抗生素抗性基因在环境中的传播扩散及抗性研究方法 [J]. 应用生态学报, 2010, 21(4): 1063-1069
- [14] 俞慎, 王敏, 洪有为. 环境介质中的抗生素及微生物生态效应 [J]. 生态学报, 2011, 31(15): 4437-4446
- [15] Aguayo S, De La Torre A, Carballo M, et al. A review of the most relevant of pharmaceuticals of human use in effluents and sludges from wastewater treatment plants [J]. Toxicol Lett, 2010, 196: S65-S65
- [16] 罗义, 张宏杰, 徐琳, 等. 天津海河流域抗生素抗性基因污染 [J]. 持久性有机污染论坛 2012 暨第七届持久性有机污染物全国学术研讨会论文集, 2012: 103-105
- [17] T. Angenent L, Mau M, George U, et al. Effect of the presence of the antimicrobial tylosin in swine waste on anaerobic treatment [J]. Water Res, 2008, 42(10/11): 2377-2384
- [18] Pei R, Cha J, H. Carlson K, et al. Response of antibiotic resistance genes (ARG) to biological treatment in dairy lagoon water [J]. Environ Sci Technol, 2007, 41(14): 5108-5113
- [19] Wang H H, Manuzon M, Lehman M. Food commensal microbes as a potentially important avenue in transmitting antibiotic resistance genes [J]. FEMS Microbiol Lett, 2006, 254(2): 226-231
- [20] Molbak K. Spread of resistant bacteria and resistance genes from animals to humans-The public health consequences [J]. Journal of Veterinary Medicine Series B-Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 2004, 51(8/9): 364-369
- [21] 董红梅, 王大娟. 畜禽养殖废水处理技术研究进展 [J]. 现代农业科技, 2011, (13): 260-262
- [22] 冀秀玲, 刘芳, 沈群辉, 等. 养殖场废水中磺胺类和四环素抗生素及其抗性基因的定量检测 [J]. 生态环境学报, 2011, 20(5): 927-933
- [23] Chee-Sanford J C, Aminov R I, Krapac I J, et al. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(4): 1494-1502
- [24] Koike S, Krapac I G, Oliver H D. Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over 3-year period [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(15): 4813-4823
- [25] Li J, Wang T, Shao B, et al. Plasmid-mediated quinolone resistance genes and antibiotic residues in wastewater and soil adjacent to swine feedlots: Potential transfer to agricultural lands [J]. Environ Health Perspect, 2012, 120(8): 1144-1149
- [26] Macauley J J, Qiang Z M, Adams C D, et al. Disinfection of swine wastewater using chlorine, ultraviolet light and ozone [J]. Water Res, 2006, 40(10): 2017-2026
- [27] 徐冰洁, 罗义, 周后星, 等. 抗生素抗性基因在环境中的来源、传播扩散及生态风险 [J]. 环境化学, 2010, 29(2): 169-178
- [28] Peak N, Knapp C W, Yang R K, et al. Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies [J]. Environ Microbiol, 2007, 9(1): 143-151
- [29] Mckinney C W, Loftin K A, Meyer M T, et al. *tet* and *sul* antibiotic resistance genes in livestock lagoons of various operation type, configuration, and antibiotic occurrence [J]. Environ Sci Technol, 2010, 44(16): 6102-6109
- [30] Jensen L, Baloda S, Boye M, et al. Antimicrobial resistance among *Pseudomonas spp.* and the *Bacillus cereus* group isolated from Danish agriculture soil [J]. Environ Int, 2001, 26(7/8): 581-587
- [31] Schmitt H, Stob K, Hamscher G, et al. Tetracyclines and tetracycline resistance in agricultural soils: Microcosm and field studies [J]. Microbiol Ecol, 2006, 51(3): 267-276
- [32] Hölzel C, Schwaiger K, Harms K, et al. Sewage sludge and liquid pig manure as possible sources of antibiotic resistant bacteria [J]. Environ Res, 2010, 110(4): 318-326
- [33] Johnston L M, Jaykus L A. Antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from produce [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(5): 3133-3137
- [34] Chapin A, Rule A, Gibson K, et al. Airborne multi-drug resistant bacteria isolated from a concentrated swine feeding operation [J]. Environ. Health Perspect, 2005, 113(2): 137-142
- [35] Sapkota A R, Ojo K K, Roberts M C, et al. Antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Enterococcus spp.* and *Streptococcus spp.* recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation [J]. Lett Appl Microbiol, 2006, 43(5): 534-540
- [36] Gibbs S G, Green C F, Tarwater P M, et al. Airborne antibiotic resistant and nonresistant bacteria and fungi recovered from two swine herd

- confined animal feeding operations [J]. Journal of Occupational and Environmental Hygiene, 2004, 1(11): 699–706
- [37] Lin C H, Hou R F, Shyu C L, et al. *In vitro* activity of mastoparan-AF alone and in combination with clinically used antibiotics against multiple-antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolates from animals [J]. Peptides, 2012, 36(1): 114–120
- [38] Douglas R C, Margaret A D, Ashish A S. Antimicrobial resistance in beef and dairy cattle production [J]. Anim Health Res Rev, 2008, 9(2): 159–167
- [39] Gao P P, Mao D Q, Luo Y, et al. Occurrence of sulfonamide and tetracycline-resistant bacteria and resistance genes in aquaculture environment [J]. Water Res, 2012, 46(7): 2355–2364
- [40] Dang H Y, Song L S, Chen M, et al. Concurrence of cat and *tet* genes in multiple antibiotic-resistant bacteria isolated from a sea cucumber and sea urchin mariculture farm in China [J]. Microbial Ecol, 2006, 52(4): 634–643
- [41] Kim S R, Nonaka L, Suzuki S. Occurrence of tetracycline resistance genes *tet(M)* and *tet(S)* in bacteria from marine aquaculture sites [J]. FEMS Microbiol Lett, 2004, 237(1): 147–156
- [42] Hoa P T P, Nonana L, Viet P H, et al. Detection of the *sul1*, *sul2*, and *sul3* Genes in Sulfonamide-Resistant Bacteria from Wastewater and Shrimp Ponds of North Vietnam [J]. Sci Total Environ, 2008, 405(1/3): 377–384
- [43] Akinbowale O L, Peng H, Barton M D. Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from aquaculture sources in Australia [J]. J Appl Microbiol, 2007, 103(5): 2016–2025
- [44] Fick J, Söderström H, Lindberg R H, et al. Contamination of surface, ground and drinking water from pharmaceutical production [J]. Environ Toxicol Chem, 2009, 28(12): 2522–2527
- [45] Liu M M, Zhang Y, Yang M, et al. Abundance and distribution of tetracycline resistance genes and mobile elements in an oxytetracycline production wastewater treatment system [J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(14): 7551–7557
- [46] Guardabassi L, Petersen A, Olsen J E, et al. Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant [J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(9): 3499–3502
- [47] Deng Y Q, Zhang Y, Gao Y X, et al. Microbial community compositional analysis for series reactors treating high level antibiotic wastewater [J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(2): 795–801
- [48] Koningstein M, Simonsen J, Helms M, et al. The interaction between prior antimicrobial drug exposure and resistance in human *Salmonella* infections [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2010, 65(8): 1819–1825
- [49] Barza M, Travers K. Excess infections due to antimicrobial resistance: the ‘Attributable Fraction’ [J]. Clin Infect Dis, 2002, 34: S126–S130
- [50] Heuer H, Krogerrecklenfort E, Wellington E M H, et al. Gentamicin resistance genes in environmental bacteria: Prevalence and transfer [J]. Appl Environ Microbiol, 2004, 70(12): 7372–7377
- [51] Jakobsen L, Sandvang D, Hansen L H, et al. Characterisation dissemination and persistence of gentamicin in resistant *Escherichia coli* from a Danish university hospital to the wastewater environment [J]. Environ Int, 2008, 34(1): 108–115
- [52] Webster L F, Thompson B C, Fulton M H, et al. Identification of Sources of *Escherichia coli* in South Carolina estuaries using antibiotic resistance analysis [J]. Exp Mar Biol Ecol, 2004, 298(2): 179–195
- [53] Leclercq R, Oberlé K, Galopin S, et al. Changes in enterococcal populations and related antibiotic resistance along a medical center–wastewater treatment plant–river continuum [J]. Appl Environ Microbiol, 2013, 79(7): 2428–2434
- [54] Kotzamanidis C, Zdragas A, Kourelis A, et al. Characterization of *vanA*-type *Enterococcus faecium* isolates from urban and hospital wastewater and pigs [J]. J Appl Microbiol, 2009, 107(3): 997–1005
- [55] Huang X Z, Jonathan G F, Mohamad A C, et al. Character of plasmids in multi-drug-resistant Enterobacteriaceae isolated during prospective surveillance of a newly opened hospital in Iraq [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e40360
- [56] Korzeniewska E, Korzeniewska A, Harnisz M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2013, 91: 96–102
- [57] Zhang T, Zhang M, Zhang X X, et al. Tetracycline resistance genes and tetracycline resistant lactose-fermenting Enterobacteriaceae in activated sludge of sewage treatment plants [J]. Environ Sci Technol, 2009, 43(10): 3455–3460
- [58] Huang J J, Hu H Y, Lu S Q, et al. Monitoring and evaluation of antibiotic-resistant bacteria at a municipal wastewater treatment plant in China [J]. Environ Int, 2012, 42(SI): 31–36
- [59] da Costa PM, Vaz-Pires P, Bernardo F. Antimicrobial resistance in *Enterococcus* spp. Isolated in inflow, effluent and sludge from municipal sewage water treatment plants [J]. Water Res, 2006, 40(8): 1735–1740
- [60] Börjesson S, Melin S, Matussek A, et al. A seasonal study of the *mecA* gene and *Staphylococcus aureus* including methicillin-resistant *S. aureus* in a municipal wastewater treatment plant [J]. Water Res, 2009, 43(15): 925–932
- [61] Pei R T, Kim S C, Carlson K H, et al. Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes(ARG) [J]. Water Res, 2006, 40(12): 2427–2435
- [62] Oberlé K, Capdeville M J, Berthe T, et al. Evidence for a complex relationship between antibiotics and antibiotic-resistant *Escherichia coli*: From medical center patients to a receiving environment [J]. Environ Sci Technol, 2012, 46(3): 1859–1868
- [63] Castiglioni S, Pomati F, Miller K, et al. Novel homologs of the multiple resistance regulator *marA* in antibiotic-contaminated environments [J]. Water Res, 2008, 42(16): 4271–4280
- [64] Merlin C, Bonot S, Courtois S, et al. Persistence and dissemination of the multiple-antibiotic-resistance plasmid pB10 in the microbial

- communities of wastewater sludge microcosms [5]. *Water Res*, 2011, 45(9): 2897–2905
- [5] Peltier E, Vincent J, Finn C, et al. Zinc-induced antibiotic resistance in activated sludge bioreactors [5]. *Water Res*, 2010, 44(13): 3829–3836
- [6] Deb S, Ahmed S F, Basu M. Metal accumulation in cell wall: a possible mechanism of cadmium resistance by *Pseudomonas stutzeri* [5]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2013, 90(3): 323–328
- [7] Mohammad F, Tabish R M, Mohd D, et al. Biochemical characterization of CTX-M-15 from enterobacter cloacae and designing a novel non-beta-lactam-beta-lactamase inhibitor [5]. *PLOS ONE*, 2013, 8(2): e56926
- [8] Li J, Shao B, Shen J Z et al. Occurrence of chloramphenicol-resistance genes as environmental pollutants from swine feedlots [5]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(6): 2892–2897
- [9] Rizzo L, Manaia C, Merlin C, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review [5]. *Sci Total Environ*, 2013, 447: 345–360
- [10] Johnsen P. J, Townsend J. P, Bohn T. et al. Factors affecting the reversal of antimicrobial drug-resistance [5]. *The Lancet Infect Dis*, 2009, 9(6): 357–364.
- [11] Munir M, Wong K, Xagorarakis I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan [5]. *Water Res*, 2011, 45(2): 681–693
- [12] 张自杰, 林荣忱, 金儒霖. 排水工程下册(第四版) [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2000
- [13] Gao P, Munir M, Xagorarakis I. Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant [5]. *Sci Total Environ*, 2012, 421: 173–183
- [14] Christopher N D, Elliott A V, Plach J M, et al. Diversity of integron-and culture-associated antibiotic resistance genes in freshwater floc [5]. *Appl Environ Microbiol*, 2012, 78(12): 4367–4372
- [15] Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A. Multiresistant Enterobacteriaceae with class 1 and class 2 integrons in a municipal wastewater treatment plant [5]. *Water Res*, 2012, 46(10): 3353–3363
- [16] Zhang X X, Zhang T. Occurrence, abundance, and diversity of tetracycline resistance genes in 15 sewage treatment plants across China and other global locations [5]. *Environ Sci Technol*, 2011, 45(7): 2598–2604
- [17] Zhang Y L, Marrs C F, Simon C, et al. Wastewater treatment contributes to selective increase of antibiotic resistance among *Acinetobacter* spp. [5]. *Sci Total Environ*, 2009, 407(12): 3702–3706
- [18] Luczkiewicz A, Jankowska K, Fudala-Ksiqzek S, et al. Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant [5]. *Water Res*, 2010, 44(17): 5089–5097
- [19] Fan C A, He J Z. Proliferation of antibiotic resistance genes in microbial consortia of sequencing batch reactor(SBRs) upon exposure to trace erythromycin or erythromycin-H₂O [5]. *Water Res*, 2011, 45(10): 3098–3106
- [20] Dodd M C. Potential impacts of disinfection processes on elimination and deactivation of antibiotic resistance genes during water and wastewater treatment [5]. *J Environ Monit*, 2012, 14(7): 1754–1771
- [21] Huang J J, Hu H Y, Tang F, et al. Inactivation and reactivation of antibiotic-resistant bacteria by chlorination in secondary effluents of a municipal wastewater treatment plant [5]. *Water Res*, 2011, 45(9): 2775–2781
- [22] Ben W W, Qiang Z M, Pan X, et al. Removal of veterinary antibiotics from sequencing batch reactor(SBR) pretreated swine wastewater by Fenton's reagent [5]. *Water Res*, 2009, 43(17): 4392–4402
- [23] Murat C, Otker U M, Isil B. Treatment of *E. coli* HB101 and the *tetM* gene by Fenton's reagent and ozone in cow manure [5]. *J Environ Manage*, 2010, 91(12): 2590–2593