

污水处理厂二级出水中总异养菌群对 6 种抗生素的耐受性研究

陆孙琴^{1,2}, 李轶¹, 黄晶晶², 魏斌², 胡洪营^{2,3*}

(1. 河海大学环境学院, 南京 210098; 2. 清华大学环境学院, 北京 100084; 3. 清华大学深圳研究生院, 深圳 518055)

摘要:以北京市 2 座污水处理厂二级出水为研究对象, 通过考察总异养菌群、抗性菌比例、浓度及抗生素对细菌的半抑制浓度, 研究了二级出水中一般细菌对青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平 6 种抗生素在不同浓度下的耐受性. 结果表明, 2 座污水处理厂出水中青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄和氯霉素抗性菌比例较四环素和利福平高. 当抗生素浓度为 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 污水处理厂 G 二级出水中头孢氨苄抗性菌比例最高为 59%, 而污水处理厂 Q 二级出水中氯霉素抗性菌比例最高为 44%. 头孢氨苄抗性菌在污水处理厂 G、Q 出水中的浓度分别高达 $4.0 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $3.5 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而氯霉素抗性菌浓度分别高达 $4.9 \times 10^2 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $4.6 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$. 污水处理厂 G 中异养菌对头孢氨苄的耐受能力最强, 其半抑制浓度 $> 32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 污水处理厂 Q 中, 异养菌对氯霉素的耐受能力最强, 其半抑制浓度为 $23.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 污水处理厂二级出水中部分抗生素抗性菌污染严重, 且稳定存在于低浓度抗生素的处理出水.

关键词:总异养菌数; 抗生素抗性菌; 耐受性; 半抑制浓度; 污水回用

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)11-3419-06

Antibiotic Resistance of Bacteria to 6 Antibiotics in Secondary Effluents of Municipal Wastewater Treatment Plants

LU Sun-qin^{1,2}, LI Yi¹, HUANG Jing-jing², WEI Bin², HU Hong-ying^{2,3}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hohai University, Nanjing 210098, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China)

Abstract: Prevalence of antibiotic-resistant bacteria in wastewater effluents is concerned as an emerging contaminant. To estimate antibiotic resistance in secondary effluents of municipal wastewater treatment plants, antibiotic tolerance of heterotrophic bacteria, proportion of antibiotic-resistant bacteria and hemi-inhibitory concentrations of six antibiotics (penicillin, ampicillin, cefalexin, chloramphenicol, tetracycline and rifampicin) were determined at two wastewater treatment plants (WWTPs) in Beijing. The results showed that proportions of ampicillin-resistant bacteria in WWTP-G and chloramphenicol-resistant bacteria in WWTP-Q were highest to 59% and 44%, respectively. The concentrations of ampicillin-resistant bacteria in the effluents of WWTP-G and WWTP-Q were as high as $4.0 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $3.5 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the concentrations of chloramphenicol-resistant bacteria were $4.9 \times 10^2 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $4.6 \times 10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. The data also indicated that the hemi-inhibitory concentrations of heterotrophic bacteria to 6 antibiotics were much higher than common concentrations of antibiotics in sewages, which suggested that antibiotic-resistant bacteria could exist over a long period in the effluents with low concentrations of antibiotics. Antibiotic-resistant bacteria could be a potential microbial risk during sewage effluent reuse or emission into environmental waters.

Key words: total heterotrophic bacteria; antibiotic-resistant bacteria; antibiotic tolerance; hemi-inhibitory concentrations of antibiotics; wastewater reuse

抗生素滥用会导致病原菌的耐药性日益严重^[1,2]. 抗生素抗性病原菌(以下简称“抗性菌”)的传播被世界卫生组织认为是 21 世纪最大的公共卫生安全问题之一^[3]. 城市污水处理厂作为医院污水、社区污水等的汇集地, 是各种抗性菌来源集中的场所, 污水中的抗性菌问题日渐显现^[4]. 含有抗性菌的城市污水处理出水回用或直接排放, 会增加公共人群的病原微生物感染风险, 而其中的抗性基因传播是潜在的生态危害^[5]. 目前欧美国家已对城市污水处理厂出水排放对自然环境中的抗性菌影响展

开相关研究^[6,7]. Watkinson 等^[8]对污水中的大肠杆菌耐药性进行研究, 发现四环素耐药性最高, 达 51%, 先锋霉素和磺胺二甲异噻唑其次, 分别为 41% 和 32%. 目前国内针对二级处理出水中抗性菌的浓度及存在状况研究较少, 本研究针对典型城市污水二级处理出水中总异养菌群对青霉素、氨苄青

收稿日期: 2011-01-21; 修订日期: 2011-05-30

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(50825801); 国家自然科学基金项目(51078209)

作者简介: 陆孙琴(1987~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制工程, E-mail: lusunqin@126.com

* 通讯联系人, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平这 6 种抗生素的耐受能力及抗生素抗性菌浓度水平展开分析,以期为我国再生水中的抗生素抗性菌污染提供基础。

1 材料与方法

1.1 水样

试验水样分别取自北京市 2 座实际运行的城市污水处理厂 G 和 Q 的二级处理出水。其中, G 污水处理厂采用传统活性污泥法, Q 污水处理厂采用 A²/O 工艺。取样设备均经过消毒处理,样品存于冰盒运回实验室,保存于 4℃ 冰箱,在 4 h 内进行相关微生物指标检测。

1.2 材料与试验方法

1.2.1 抗生素溶液的配制

各抗生素溶液的配制:800 mg·L⁻¹青霉素溶液、氨苄青霉素溶液和头孢氨苄溶液的溶剂为高纯水,采用 0.22 μm 水相滤头(聚醚砜)过滤;800 mg·L⁻¹氯霉素溶液和 400 mg·L⁻¹利福平溶液的溶剂为甲醇,采用 0.22 μm 有机相滤头(尼龙)过滤;800 mg·L⁻¹四环素溶液的溶剂为 70% 的乙醇溶液(无水乙醇与高纯水的体积比为 7:3),采用 0.22 μm 有机相滤头(尼龙)过滤。过膜除菌后的抗生素溶液,避光保存于 -20℃ 冰箱中,保存时间不超过 1 周。

1.2.2 培养基

抗生素抗性培养基:灭菌后冷却至 45 ~ 50℃ 的琼脂培养基(培养基成分:蛋白胨 10 g·L⁻¹,牛肉膏 3 g·L⁻¹,氯化钠 5 g·L⁻¹,琼脂 15 g·L⁻¹)中分别加入青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平,每种抗生素的梯度浓度为 4、8、16、32 mg·L⁻¹。

1.2.3 总异养菌群的抗生素耐受性检测方法

(1)总异养菌群检测^[9] 细菌计数采用平板倾注培养计数法,即普通营养琼脂倾注法。将待测水样梯度稀释后,取 1 mL 接种于灭菌平板,每个样本 3 个平行,在平板中倒入 10 mL 已灭菌融化并冷却至 45 ~ 50℃ 的营养琼脂培养基,轻轻转动平板,使菌液与培养基混合均匀,冷凝后将平板倒置于 37℃ 培养箱中培养 24 h,按照细菌活菌平板计数方法进行计数^[10]。

(2)总异养菌群抗生素耐受性检测 细菌计数采用平板倾注培养计数法。将待测水样梯度稀释后,取 1 mL 接种于灭菌平板,每个样本 3 个平行,倒入 10 mL 已灭菌融化并冷却至 45 ~ 50℃ 加入一定浓度抗生素的营养琼脂培养基于平板中,轻轻转动平板,

使菌液与有抗生素溶液的培养基混合均匀,冷凝后将平板倒置于 37℃ 培养箱中培养 24 h,按照细菌活菌平板计数方法进行计数^[10]。

1.2.4 数据处理方法

(1)存活率

$$\text{存活率}(\%) = \frac{N_i^j}{N_0} \times 100\%$$

式中, N_i^j :加入抗生素 j 的第 i 实验组的单位体积水样的菌落(CFU·mL⁻¹),抗生素 j 包括青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平; N_0 :对照组(即无抗生素平板)的单位体积水样的菌落(CFU·mL⁻¹)。

(2)剂量效应与半抑制浓度

四参数 Logistic 方程用于拟合抗生素对二级处理出水中的总异养菌群的剂量效应曲线。四参数 Logistic 方程如下:

$$\text{存活率}(\%) = \frac{A_1 - A_2}{1 + (x/x_0)^p} + A_2$$

式中, A_1 :无抗生素添加的效应值,设定初始值为 100; A_2 :抗生素添加足够多时的效应值,设定初始值为 0; x_0 :半抑制浓度(mg·L⁻¹),即 IC₅₀; x :添加的抗生素浓度(mg·L⁻¹); p :曲线坡度参数。

将存活率和相对应的抗生素浓度输入软件 Origin 8.0 的工作簿中,选择药物剂量效应 S 曲线拟合,获得二级处理出水中总异养菌群对于相应抗生素的半抑制浓度。

2 结果与分析

2.1 二级出水中总异养菌群对抗生素的响应

城市污水处理厂 G 二级处理出水中总异养菌群对青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平这 6 种抗生素的响应曲线如图 1 所示。对于同一种抗生素, G 污水处理厂二级出水中的总异养菌群数随着抗生素浓度的增加而减少,四环素和利福平尤为显著。当四环素和利福平浓度为 16 mg·L⁻¹和 32 mg·L⁻¹时,总异养菌群数几乎为 0。总体而言,污水中的总异养菌群对青霉素、氨苄青霉素、氯霉素和头孢氨苄的耐受能力较高,对四环素和利福平的耐受能力较差,这可能与它们的特性有关。四环素和利福平都属于广谱抗生素,具有较强的杀菌作用,所以在高浓度的情况下,细菌很难存活。而氯霉素、头孢氨苄和氨苄青霉素虽是广谱抗生素,但它们的毒性很低,青霉素的主要抗菌谱是革兰氏阳性菌,对水体中的革兰氏阴性菌作用不大。

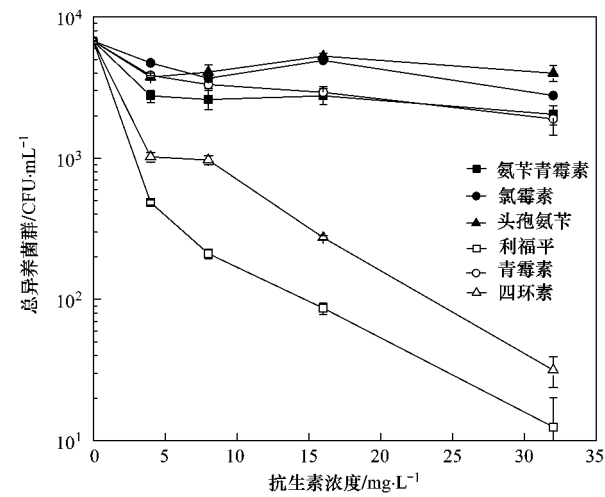


图 1 污水处理厂 G 二级出水中总异养菌群数在不同抗生素浓度下的响应曲线

Fig. 1 Response of heterotrophic bacteria to antibiotics in the secondary effluent from WWTP-Q

由图 2 可见,Q 污水处理厂中异养菌群数远高于 G 污水处理厂中异养菌群数,可能与污水处理厂的设计、运行和进水水质有关^[11, 12]. Q 污水处理厂二级出水中不同浓度的抗生素对总异养菌群数影响的一般规律与 G 污水处理厂相似.

根据 2006 年美国临床实验室标准化协会 (CLSI) 规定,青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平这 6 种抗生素药敏试验标准中的最高抗性界定浓度分别为 16、32、32、32、16、4

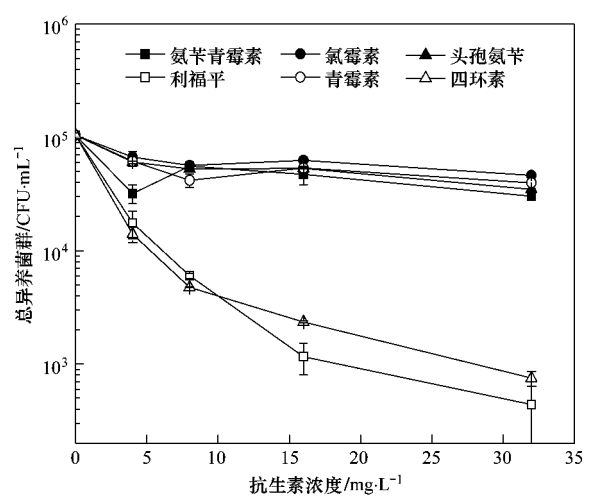


图 2 污水处理厂 Q 二级出水总异养菌群数在不同抗生素浓度下的响应曲线

Fig. 2 Response of heterotrophic bacteria to antibiotics in the secondary effluent from WWTP-Q

mg·L⁻¹. 以此最高抗性界定浓度设定为污水中总异养菌群的抗性界定浓度,得到 2 座城市污水处理厂二级处理出水中 6 种抗性菌的浓度,如表 1 所示. 污水处理厂 Q 的二级出水中青霉素抗性菌浓度最高,为 5.4 × 10⁴ CFU·mL⁻¹. 而污水处理厂 G 的二级出水中抗性菌浓度普遍较污水处理厂 Q 低,但其中最低浓度的利福平抗性菌浓度仍高达 2.8 × 10² CFU·mL⁻¹. 由此可以看出该 2 座城市污水厂二级处理出水中一般细菌的耐药性比较严重,抗性菌浓度较高.

表 1 不同抗生素在抗性界定浓度下所对应的异养菌群数¹⁾
Table 1 Plate counts of heterotrophic bacteria to antibiotics at certain concentrations

项目	PEN	AMP	CEL	CHL	TET	RIF
CLSI 药敏试验标准中抗性界定浓度/mg·L ⁻¹	16	32	32	32	16	4
WWTP-G 抗性菌浓度/CFU·mL ⁻¹	2.9 × 10 ³	2.8 × 10 ³	4.0 × 10 ³	4.9 × 10 ²	3.0 × 10 ³	2.8 × 10 ²
WWTP-Q 抗性菌浓度/CFU·mL ⁻¹	5.4 × 10 ⁴	3.0 × 10 ⁴	3.5 × 10 ⁴	4.6 × 10 ⁴	2.3 × 10 ³	1.8 × 10 ⁴

1) PEN:青霉素; AMP:氨苄青霉素; CEL:头孢氨苄; CHL:氯霉素; TET:四环素; RIF:利福平,下同

城市污水处理厂出水中的抗性菌可能是城市景观水体、自然水体中抗性菌的主要来源. 有研究推测,医院排放高浓度抗生素污水可能是导致水环境中耐药菌增多的主要原因^[13]. 但 Wiethan 等^[14]通过对医院和城市污水中耐药菌的比较,发现 2 种水体中的耐药菌数量级大致相同. 考虑到医院污水排入城市污水后平均有 100 倍的稀释作用,医院污水对于城市污水的贡献率还不到 1%^[15, 16]. 同时 Ohlsen 等^[17]对医院污水进行研究,发现抗性菌的迁移和选择并不是偏向于高浓度抗生素的污水,因此医院污水排放不应该是造成城市管道排放水环境中

耐药菌增加的主要原因. 目前对造成水环境中耐药菌增加的主要原因存在一定的争议,需要对各种污水排放进行监测和评估,以期综合评价造成耐药菌增加的主要原因.

2.2 二级出水中 6 种抗生素抗性菌的比例

目前关于水中抗性菌的研究大多通过细菌分离和抗性鉴定方法来测得水中抗性菌的比例,以此来判断水中抗性菌的污染状况. 因此本研究给出了在不同浓度青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄、氯霉素、四环素和利福平暴露下二级出水中总异养菌群的比例,如图 3 和图 4 所示. 对于同一种抗生素,抗性菌

比例随抗生素浓度的增加而减少,但不同污水处理厂的二级出水中同一种抗生素抗性菌的比例存在一定的差异.例如,当抗生素浓度为 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,污水处理厂 G 二级出水中头孢氨苄抗性菌比例最高为 59%,而污水处理厂 Q 二级出水中氯霉素抗性菌比例最高为 44%. 总体而言, G 和 Q 二座污水处理厂二级出水中氯霉素、青霉素、先锋霉素和氨苄青霉素的抗性菌比例较高,远远超过了四环素和利福平抗性菌. 城市污水处理出水中不同抗生素抗性菌比例不同的原因可能与抗生素的使用剂量、疗程及治疗次数有关^[18].

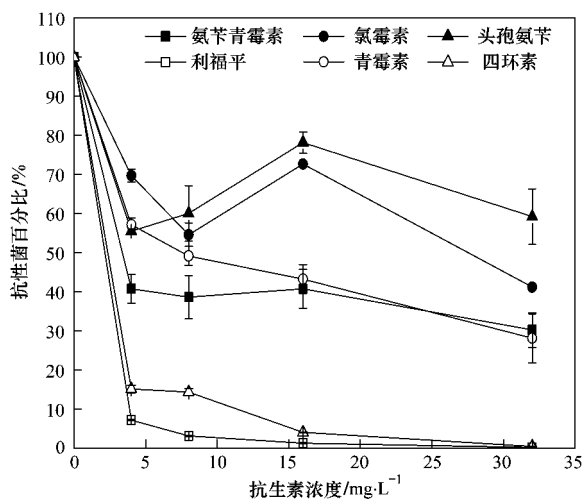


图3 污水处理厂 G 二级出水中总异养菌群数在不同抗生素浓度下的存活比例

Fig. 3 Survival of heterotrophic bacteria to antibiotics in the secondary effluent from WWTP-Q

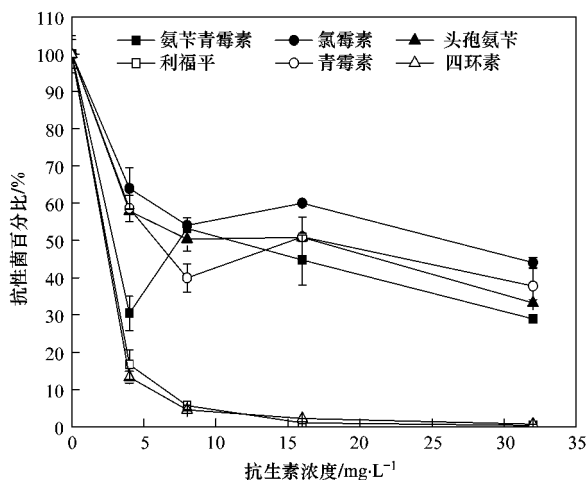


图4 污水处理厂 Q 二级出水中总异养菌群数在不同抗生素浓度下的存活比例

Fig. 4 Survival of heterotrophic bacteria to antibiotics in the secondary effluent from WWTP-Q

Zhang 等^[12]通过对美国 1 座污水处理厂进水、二级出水中不动杆菌进行分离研究,发现对氯霉素的抗性分别达 25.2%、35.0%. Guardabassi 等^[4]对丹麦的 2 座污水处理厂污水中分离的不动杆菌进行研究,发现进水中的不动杆菌对氯霉素的抗性最高为 15.4% 和 7.9%,对四环素的抗性其次为 9.2% 和 6.3%,对氨苄青霉素的抗性最弱为 0%、1.6%;处理过的废水中的不动杆菌的抗性与前者相似,对氯霉素的抗性最高为 18.3% 和 12.7%,对四环素的抗性其次为 13.3% 和 6.9%,而对氨苄青霉素非常敏感.有研究报告,澳大利亚废水中分离的大肠杆菌对四环素和先锋霉素的抗性较高,分别达 51% 和 41%^[8]. 本研究中 2 座污水处理厂中总异养菌对氨苄青霉素、头孢氨苄、青霉素、氯霉素的抗性比例最低为 30%,相比国外的报道,我国污水中的抗性菌比例较高,更值得关注. Reinthaler 等^[19]通过对澳大利亚 3 座污水处理厂分离的大肠杆菌进行研究,发现 57% 大肠杆菌对四环素具有耐药性. Stine 等^[20]对猪养殖场的四环素抗性基因的分布情况进行调查,结果发现 77% 的大肠杆菌和 68% 的肠球菌对四环素具有耐药性. 而本研究中城市污水处理厂中四环素的抗性菌比例较低,主要是因为 20 世纪 70 年代发现四环素用于治疗对身体副作用较大,逐步被其他抗生素所代替,而更多地用于畜禽养殖和水产养殖^[21]. 四环素本身见光分解,是疏水性物质,具有强烈的金属配合物,吸附到沉积物的能力很强,导致城市污水中四环素的浓度很低^[22],再加上四环素具有明显的杀菌作用,可能是导致城市污水中四环素抗性菌比例较低的原因. 虽然,β-内酰胺类(青霉素、氨苄青霉素、头孢氨苄)在室温下容易水解,水环境中的浓度极低^[23],然而本研究中城市污水处理厂二级处理出水中的 β-内酰胺类的抗性菌比例较高,可能是由青霉素、氨苄青霉素和头孢氨苄作为我国医疗抗生素使用的基本常用药物过多使用造成的.

2.3 污水处理厂二级出水整体抗生素抗性水平

对污水处理厂二级处理出水中的总异养菌群进行抗生素的半抑制浓度分析,可以获得污水处理厂出水中细菌群体的平均抗生素抗性水平. 通过比较 G 和 Q 污水处理厂中总异养菌群的抗生素半抑制浓度(表 2),可知北京市 2 座污水处理厂二级处理出水中总异养菌群的 6 种抗生素抗性水平类似又有差异. G 和 Q 污水处理厂二级处理出水中细菌群体的氯霉素抗性水平均较高,其半抑制浓度分别高达 $29.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $23.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. G 污水处理厂二级处

理出水中细菌的头孢氨苄半抑制浓度 $>32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 高于 Q 污水处理厂二级处理出水一般细菌的头孢氨苄抗性水平. 由此可说明, 不同污水处理厂出水中异养菌的抗生素抗性水平不同.

表 2 北京市 2 座污水处理厂二级出水中总异养菌群的抗生素半抑制浓度

WWTPs	IC ₅₀ /mg·L ⁻¹					
	PEN	AMP	CEL	CHL	TET	RIF
WWTP-G	7.4 (±0.8)	0.6 (±0.9)	>32	29.6 (±16.5)	0.6 (±0.4)	0.6 (±0.1)
WWTP-Q	7.3 (±2.8)	0.03 (±0.5)	9.4 (±1.4)	23.1 (±7.2)	1.2 (±0.2)	1.6 (±0.3)

由表 2 可知, 污水处理厂 G 中异养菌的平均抗性水平最高 $>32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最低为 $0.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而在污水处理厂 Q 中, 异养菌的平均抗性水平最高为 $23.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最低为 $0.03\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 我国污水处理厂污水中抗生素浓度在 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1} \sim \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 微量水平 (表 3), 远低于异养菌的抗生素半抑制浓度. 说明抗性菌能在低浓度抗生素环境中长期稳定存在, 而污水中低浓度的抗生素对菌群耐药性的选择压力可能是抗性菌稳定存在的重要原因之一^[16].

目前, 人们利用培养和耐药性测试以及抗性编码基因检测, 在全世界的废水和污泥中都发现了 β -内酰胺类、喹诺酮类、四环素类、甲氧苄啶和磺酰胺类的抗性菌^[28, 29]. 根据现有文献可知, 输入到环境中的抗生素抗性菌是环境中抗性菌污染的主要来源, 因此谨慎使用抗生素^[30, 31]、从源头上杜绝耐药性菌株的输入对减少抗性菌的环境风险至关重要^[32], 而加强各类水体中抗性菌的监测是控制环境中抗性菌传播的基础.

表 3 我国污水处理厂中各种抗生素的浓度

抗生素类型	Concentrations of antibiotics in sewage treatment plants in China		文献
	进水浓度/ng·L ⁻¹	出水浓度/ng·L ⁻¹	
头孢氨苄	670 ~ 2 900	240 ~ 1 800	[24]
磺胺甲恶唑	5 450 ~ 7 910	<100	[25]
磺胺甲恶唑	10 ~ 118	9 ~ 78	[26]
磺胺嘧啶	5 100 ~ 5 150	<150	[25]
磺胺嘧啶	<72	<36	[26]
甲氧苄啶	120 ~ 320	120 ~ 230	[24]
四环素	96 ~ 1 300	180 ~ 620	[24]
环丙沙星	80	27	[27]
诺氟沙星	110 ~ 460	85 ~ 320	[24]
诺氟沙星	54 ~ 263	27 ~ 85	[26]
诺氟沙星	339	85	[27]
氧氟沙星	3 520 ~ 5 560	<740	[25]
氧氟沙星	80 ~ 368	41 ~ 165	[26]
氧氟沙星	1 208	503	[27]
红霉素	470 ~ 810	520 ~ 850	[24]
红霉素	253 ~ 1 978	216 ~ 2 054	[26]

3 结论

(1) 北京市 2 座城市污水处理厂二级处理出水中的总异养菌群随抗生素浓度的增加呈相应减少, 6 种抗生素抗性菌浓度普遍较高. 污水处理厂 G 出水中头孢氨苄抗性菌浓度最高, 达 $4.0 \times 10^3\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$; 污水处理厂 Q 出水中青霉素抗性菌浓度最高, 达 $5.4 \times 10^4\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$. 而 2 座污水处理厂出水中的抗性菌最低浓度仍达 $2.8 \times 10^2\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$.

(2) 城市污水处理厂二级处理出水中的抗性菌比例较高. 相比于四环素和利福平抗性菌, 氨苄青霉素、青霉素、头孢氨苄和氯霉素抗性菌比例较前两者高. 当浓度为 $32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 污水处理厂 G 二级出水中头孢氨苄抗性菌比例最高为 59%, 而污水处理厂 Q 二级出水中氯霉素抗性菌比例最高为 44%. 通过与国外细菌分离测得水中抗性菌比例的数据比较, 说明我国城市污水中的抗生素抗性菌污染较为严重.

(3) 根据总异养菌的抗生素半抑制浓度, 获得二级处理出水中异养菌群对 6 种抗生素的平均抗性水平. 2 座污水处理厂出水中总异养菌的氯霉素抗性水平均较高, 分别高达 $29.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $23.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 污水处理厂 G 出水中总异养菌的头孢霉素抗性水平 $>32\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 总异养菌群的抗生素抗性水平远高于污水中的抗生素浓度, 说明污水中的抗性菌能在低浓度抗生素水体中长期存在, 值得关注.

参考文献:

[1] Andersson D I. The biological cost of mutational antibiotic resistance: any practical conclusions? [J]. Current Opinion in Microbiology, 2006, 9(5): 461-465.

[2] Johnston N. Reversing the evolution of antibiotic resistance [J]. Drug Discovery Today, 2005, 10(19): 1267.

[3] 顾欣, 金凌艳, 蔡金华, 等. 国家动物源细菌耐药性监测工作的探讨和建议[J]. 中国兽药杂志, 2009, 43(7): 45-50, 53.

[4] Guardabassi L, Wong D M A Lo Fo, Dalsgaard A. The effects of tertiary wastewater treatment on the prevalence of antimicrobial

- resistant bacteria [J]. *Water Research*, 2002, **36**(8):1955-1964.
- [5] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment [J]. *Ecological Indicators*, 2008, **8**(1):1-13.
- [6] Ferreira da Silva M, Tiago I, Verissimo A, *et al.* Antibiotic resistance of enterococci and related bacteria in an urban wastewater treatment plant [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **55**(2):322-329.
- [7] Miguel F D S, Ivone V M. Antimicrobial resistance patterns in *Enterobacteriaceae* isolated from an urban wastewater treatment plant [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, **60**(1):166-176.
- [8] Watkinson A J, Micalizzi G B, Graham G M, *et al.* Antibiotic resistant *Escherichia coli* in wastewaters, surface waters and oysters from an urban riverine system [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(17):5667-5670.
- [9] ISO 6222, 1999, Water quality-integration of culturable microorganisms colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium [S].
- [10] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验 [M]. (第三版). 北京: 高等教育出版社, 2004.
- [11] Iwane T, Urase T, Yamamoto K. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water [J]. *Water Science and Technology*, 2001, **43**(2):91-99.
- [12] Zhang Y L, Marrs C F, Simon C, *et al.* Wastewater treatment contributes to selective increase of antibiotic resistance among *Acinetobacter* spp [J]. *Science of the Total Environment*, 2009, **407**(12):3702-3706.
- [13] Heuer H, Kroggerckenfort E, Wellington E M H, *et al.* Gentamicin resistance genes in environmental bacteria: prevalence and transfer [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **42**(2):289-302.
- [14] Wiethan J, Unger J, Brunswik T A, *et al.* Occurrence and reduction of antibiotic resistant (pathogenic) bacteria in municipal sewage treatment plants [A]. In *Proc: International Water Association 2nd World Water congress*, Berlin [C]. Berlin: International Water Association, 2001. 227.
- [15] Kümmerer K, Henninger A. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent [J]. *European Journal of Clinical Microbiology and Infection*, 2004, **9**(12):1203-1214.
- [16] Kümmerer K. *Pharmaceuticals in the Environment* [M]. Berlin Heidelberg, New York: Springer Publisher, 2008. 433-440.
- [17] Ohlsen K, Ziebuhr W, Koller K, *et al.* Effects of sub inhibitory concentrations of antibiotics on alpha-toxin (*hla*) gene expression of methicillin-sensitive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1998, **42**(11):2817-2823.
- [18] 贾杰. 抗生素的耐药性与抗生素的应用 [J]. *中国热带医学*, 2007, **7**(9):1678-1680.
- [19] Reinhthler F F, posch J, Feierl G, *et al.* Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge [J]. *Water Research*, 2003, **37**(8):1685-1690.
- [20] Stine O C, Johnson J A, Keefer-Norris A, *et al.* Widespread distribution of tetracycline resistance genes in a confined animal feeding facility [J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2007, **29**(3):348-352.
- [21] 杨煜东, 陈东辉, 黄满红. 环境中抗生素的来源及其生态影响研究进展 [J]. *环境科学与管理*, 2010, **35**(1):140-143, 190.
- [22] Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review [J]. *Plant Nutrition and Soil Science*, 2003, **166**(2):145-167.
- [23] Bergheim M, Helland T, Kallenborn R, *et al.* Benzyl-penicillin (Penicillin G) transformation in aqueous solution at low temperature controlled laboratory conditions [J]. *Chemosphere*, 2010, **81**(11):1477-1485.
- [24] Gulkowska A, Leung H W, So M K, *et al.* Removal of antibiotics from wastewater by sewage treatment facilities in Hong Kong and Shenzhen, China [J]. *Water Research*, 2008, **42**(2):395-403.
- [25] Peng X, Wang Z, Kuang W, *et al.* A preliminary study on the occurrence and behavior of sulfonamides, ofloxacin and chloramphenicol antimicrobials in wastewaters of two sewage treatment plants in Guangzhou, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2006, **371**(1-3):314-322.
- [26] Xu W H, Zhang G, Li X D, *et al.* Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China [J]. *Water Research*, 2007, **41**(19):4526-4534.
- [27] Xiao Y, Chang H, Jia A, *et al.* Trace analysis of quinolone and fluoroquinolone antibiotics from wastewaters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, **1214**(2):100-108.
- [28] Kümmerer K. Resistance in the environment [J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, **54**(2):311-320.
- [29] Schluter A, Szczepanowski R, Puhler A, *et al.* Genomics of IncP-1 antibiotic resistance plasmids isolated from wastewater treatment plants provides evidence for a widely accessible drug resistance gene pool [J]. *Microbiology Review*, 2007, **31**(4):449-477.
- [30] Harrison P F, Lederberg J. *Antimicrobial Resistance* [M]. Washington: National Academic Press, 1998. 317-699.
- [31] Niquille A, Bugnon O. *Pharmaceuticals and environment: role of community pharmacies* [M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2008. 467-473.
- [32] Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment—a review [J]. *Chemosphere*, 2009, **75**(4):417-434.