

覃彩霞, 佟娟, 申佩弘, 等. 污水处理过程中细菌整合子的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(11): 1-7. Qin Caixia, Tong Juan, Shen Peihong, et al. Integron-containing antibiotic resistant bacteria wastewater treatment processes: an overview[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 38(11): 1-7.

污水处理过程中细菌整合子的研究进展

覃彩霞^{1,2}, 佟娟^{1*}, 申佩弘², 魏源送^{1,3}

(1.中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2.广西大学生命科学与技术学院, 广西 南宁 530005;
3.江西省科学院能源研究所, 江西 南昌 330096)

摘要: 随着抗生素的广泛使用, 细菌对抗生素的耐药性也随之增强, 这产生了巨大的潜在环境和健康风险。近年来, 耐药菌 (antibiotic resistant bacteria, ARB) 和抗性基因 (antibiotic resistance gene, ARG) 受到了越来越广泛的关注, 整合子在耐药菌具有多重耐药性和抗性水平转移方面起到了重要作用, 文章总结了细菌整合子的污染现状, 分析了污水处理过程中细菌整合子的转归特征和整合子去除机制的研究进展, 同时对将来的研究重点提出了展望, 以便为今后细菌整合子的研究提供参考。

关键词: 耐药菌; 整合子; 多重耐药; 污水处理

中图分类号: X171 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1003-6504.2015.11.001 文章编号: 1003-6504(2015)11-0001-07

Integron-containing Antibiotic Resistant Bacteria Wastewater Treatment Processes: an Overview

QIN Caixia^{1,2}, TONG Juan^{1*}, SHEN Peihong², WEI Yuansong^{1,3}

(1. Research Center for Eco-environmental Science, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China;
2. College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530005, China;
3. Institute of Energy, Jiangxi Academy of Science, Nanchang 330096, China)

Abstract: With the wide use of antibiotics, drug resistance of bacteria has been gradually enhanced, and posed great risk potential to environment and human health. In recent years, antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance gene (ARG) have been paid more and more attention, and integrons play a major role in multi-drug resistance in bacteria and ARG horizontal transfer among bacterial species. Therefore the purpose of this study is to summarize pollution status of integron-containing antibiotic resistant bacteria in environment, to review fates and mechanism of removing integron-containing antibiotic resistant bacteria during wastewater treatment processes, meanwhile to propose future research areas for controlling integron-containing antibiotic resistant bacteria.

Key words: antibiotic resistant bacteria; integrin; multi-drug resistance; wastewater treatment

自 1940 年青霉素作为人类发现的第一种抗生素投入使用以来, 抗生素广泛应用于人类医疗、畜禽养殖和水产养殖, 不仅大幅度降低了传染病致死率, 延长了人类寿命, 而且提高了动物的生长速率和生产效率。然而, 抗生素不易被机体吸收, 高达 95% 的抗生素以原药或活性代谢物的形式排放到环境中, 对环境微生物产生选择性压力, 促使微生物对抗生素产生抗性, 导致了耐药菌的大量出现^[1-2], 产生了巨大的潜在环境和健康风险^[3-5]。近年来, 已发现环境中超过 70%

的细菌至少对一种抗生素具有抗性^[5], 并在医学和兽医临床上出现了超强耐药、多重耐药性病原菌, 危害越来越严重, 几乎到了无药可用的地步^[6]。2010 年 6 月, 比利时布鲁塞尔一家医院出现了首例因超级病菌而死亡的病例^[7], 随后 2010 年 8 月 11 日《柳叶刀-感染》杂志披露了英国、印度、巴基斯坦存在“超级细菌”, 在不足 3 个月的时间内, “超级耐药菌”疫情在世界范围内流行^[8]。随着耐药菌和抗性基因的传播日益全球化, 人类受到病原耐药菌感染的频率增加, 其发

《环境科学与技术》编辑部 (网址) <http://hjks.chinajournal.net.cn> (电话) 027-87643502 (电子信箱) hjkxyjs@vip.126.com

收稿日期 2015-01-28, 修回 2015-04-08

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费课题(201303091), 国家水体污染控制与治理科技重大专项课题(2012ZX07203-002), 国家自然科学基金基金项目(21207147)

作者简介: 覃彩霞(1990-), 女, 硕士研究生, 从事微生物学方向研究 (电子信箱) qincaixia1990@163.com, * 通讯作者 (电子信箱) hitj@163.com。

病率、死亡率和医药费用也都不断增加,人类健康受到了严重威胁^[9]。因此,耐药菌的传播与控制受到了全世界的广泛关注。

抗性基因是耐药菌具有抗性的主要原因之一,它可以通过多种形式的可移动遗传元件如质粒、整合子、转座子、插入序列等,突破细菌之间的种属关系进行水平转移,使抗性污染不断加重^[10],其中整合子是细菌高效地进行抗性基因水平转移的重要工具^[11]。整合子是存在于细菌中可移动的基因捕获和表达的遗传单位,通过转座子或接合性质粒使多重耐药基因在细菌中进行水平传播。整合子存在于许多细菌中,定位于染色体和质粒或转座子上,是细菌固有的一种遗传单位,并通过捕获外源性基因来增强细菌生存的适应性。目前,已发现至少 5 种类型的整合子(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ 类整合子)能够使耐药菌和抗性基因实现水平转移。如图 1 所示,整合子由 3'和 5'保守末端及中间的可变序列组成,3'保守末端携带编码整合酶基因 *int* 和一个启动子的基因片段,5'保守末端携带 *att* 位点。5'保守末端重组位点 *att* 大多由 3 个开放阅读框架组成,第一个是 *qacEΔ1*,具有对季胺类化合物的耐药性;第二个开放阅读框架 *su11*,具有对磺胺类药物的耐药性;第三个开放阅读框架是 *ORF5*,其功能尚未明确^[11-12]。Ⅰ类整合子是最常出现的一种类型^[13],其中间结构至少包含有一个基因盒结构。所以,细菌携带整合子和基因盒的量为细菌的多重耐药率和水平转移提供了一个重要的证据^[14]。

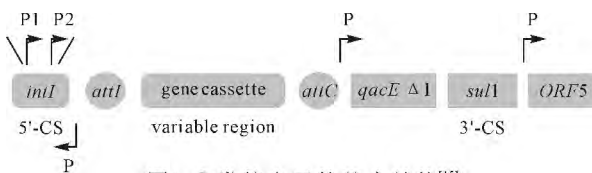


图 1 I 类整合子的基本结构^[15]
Fig.1 Basic structure of Class I integron

污水被认为是耐药菌存在的重要环境^[16-18]。耐药菌和抗性基因主要在含有一定浓度抗生素的压力环境中形成^[19],而污水(如医药废水、制药废水、城市污水等)中含有一定浓度的残留抗生素残余物,且营养丰富,所以耐药菌的丰度很高,并且由于宿主丰富,这又促进了细菌整合子和抗性基因的水平转移^[20-21]。目前,细菌整合子已经在各种环境中(比如地表水、地下水、沉积物、土壤等)检测到^[22-24],那么,控制细菌整合子的扩散和水平转移对抗性污染控制至关重要。因此,深入了解污水处理过程中细菌整合子的污染特征和水平转移机制将有利于控制抗性污染。

随着人类对抗性污染越来越关注,有关细菌整合子和抗性基因分布、扩散和传播的研究日益增多。所

以,本文的目的就是总结细菌整合子在污水处理过程中的分布、水平转移、去除机制等方面的研究进展,并对今后的研究重点和研究方向进行展望,以期在污水处理过程中细菌整合子的水平转移及其控制提供有益参考。

1 耐药菌整合子在环境中的分布现状

1.1 医药废水

已有的大部分研究表明,医院废水含有高浓度的残留抗生素和大量的耐药菌,并且细菌整合子出现的频率甚高。比如,Chen 等^[25]分离了湛江某医院废水中的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),发现其对抗生素耐药率为 29.6%~90.1%,其中 38%携带 *intI1*。Bezares 等^[26]从医院废水中分离出 123 株耐碳青霉烯类抗生素的铜绿假单胞菌(*Carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa*),发现 75%携带 *intI1*。Yang 等^[27]从临床中分离出 153 株志贺氏杆菌(*Shigella*),发现 64.1%为耐药整合子细菌。Mokracka 等^[28]从医院废水中分离出的阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*),有 54%携带整合子。由此可见,医院废水中细菌整合子出现的频率很高,此外,有研究表明医院废水中耐药菌整合子高于其他环境,例如, Koczura 等^[29]比较了医院废水、污水处理厂、河流上游和河流下游中耐药菌和抗性基因的情况,发现这些水环境中携带整合子的耐药大肠杆菌(*Escherichia coli*)的比例分别为 56%、11%、6%和 14%,医院废水中携带整合子的大肠杆菌耐药菌的比例显著高于其他环境,并且其多重耐药率也明显较高。医院废水中耐药细菌整合子出现频率高的原因很可能与医院废水中高浓度抗生素形成的选择压力有关^[30]。Marathe 等^[31]从某制药废水厂不同处理单元分离出 93 株不同形态的细菌,发现 86%对 20 多种抗生素具有抗性,其中 80%的细菌携带 Ⅰ类和 Ⅱ类整合子,93%的细菌至少携带一种类型的整合子,并认为高浓度抗生素的选择压力环境促进了细菌之间通过整合子进行抗性基因的水平转移,导致了大部分细菌具有多重耐药性。因此,今后对细菌整合子的进一步研究,控制由整合子引起的耐药性传播,医院废水的处理将成为一个重点研究对象。

1.2 城市污水

目前很多研究表明,污水处理厂是细菌整合子实现抗性水平转移的一个重要环境。不同的污水处理厂,细菌整合子出现的频率不同。Igbinsosa 等^[32]从南非地区的某污水处理厂中分离出 24 株气单胞菌(*Aeromonas*),发现 100%的气单胞菌对万古霉素、青霉素、氨苄青霉素、苯甲异噁唑青霉素抗生素具有抗性,

其中 20.8% 携带 β -内酰胺酶类整合子。然而 Silva 等^[33]认为污水处理厂中埃希氏肠杆菌(*Escherichia coli*)携带 β -内酰胺酶类整合子的比例远比医院废水中携带 β -内酰胺酶类整合子的比例低。他从葡萄牙某城市污水处理厂中分别分离出 346 株肠杆菌,其中 76% 为埃希氏肠杆菌,而仅 10% 的埃希氏肠杆菌携带 β -内酰胺酶类整合子。Moura 等^[34]从葡萄牙某屠宰场污水处理厂中分离出气单胞菌(*Aeromonas*)和肠杆菌(*Enterobacteriaceae*)中 35% 携带整合子。虽然对污水处理厂中细菌整合子的调研已经越来越多,很多学者推测污水处理厂是细菌整合子和抗性基因进行水平转移的重要环境,但是细菌整合子在污水处理厂中促使抗性水平转移的机制还不明确,细菌整合子在细菌抗性水平转移是否起到了重要作用也还不明确,因此细菌整合子促进抗性水平转移的机制将成为今后城市污水处理厂抗性污染研究的重点。

1.3 养殖废水

由于抗生素广泛应用于动物(水产、畜禽)养殖,导致了动物养殖场也出现了携带整合子的耐药菌。如 Ndi 等^[35]从澳大利亚 9 个鲑鱼养殖场中分离出 90 株气单胞菌,其中有 31% 携带 β -内酰胺酶类整合子,没有检测到 β -内酰胺酶类整合子,其中 70% 携带 *aadA* 基因,86.7% 携带 *sul1* 基因。Yohanna 等^[36]从墨西哥某鲤鱼养殖厂中新鲜的鱼体中分离出 46 株气单胞菌,其中有 20 株携带 β -内酰胺酶类整合子。Schmidt 等^[37]从丹麦某渔场中分离出 135 株耐甲氧苄啶和磺胺类抗生素的运动型气单胞菌(*Motile aeromonads*),其中 141 株携带 β -内酰胺酶类整合子,携带整合子的耐药菌出现的比例甚高。Melendez 等^[38]从家禽牧场中分离出 59 株沙门氏菌(*Salmonella enterica*),所有的菌株对磺胺甲基异噁唑和新生霉素具有抗性,其中 68% 携带整合子,即使停止抗生素在农场的使用,携带整合子的耐药菌出现的频率还是很高,作者推断抗性污染增加的一个重要因素可能是野生动物之间相互接触频繁,耐药性通过整合子进行水平转移使抗性不断传播。

1.4 天然水体和土壤

目前不仅仅是在抗生素使用量大的地方出现细菌整合子,而且在各种环境中都已不同程度地检测到了细菌整合子。比如,Wang 等^[39]调研了中国胶州湾海域,发现 93.8% 的肠杆菌携带 β -内酰胺酶基因,其中 68.8% 携带 β -内酰胺酶类整合子,这说明细菌整合子在胶州湾海域出现的频率甚高。Yin 等^[40]从太湖中分离出 78 株细菌,其中 38.5% 携带整合子。Mukherjee 等^[41]调研了印度托尔萨河中革兰氏阴性菌携带 β -内酰胺酶类整合子的情况,发现 100 株革兰氏阴性菌中有 40% 携带 β -内酰胺酶类整合子。Silva 等^[42]从荷兰不同农作物土壤中分离出 40 株

绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),其中 95.2% 对阿奇霉素具有抗性,85% 对羟基噻吩青霉素具有抗性,4 株携带有质粒,8 株携带有 β -内酰胺酶类整合子,由于阿奇霉素和羟基噻吩青霉素是用于临床囊性纤维变性患者,在农作物土壤中出现了携带整合子的耐药菌,其原因还有待深入研究。

2 污水处理过程中携带整合子的耐药菌去除效果

整合子是耐药菌具有多重耐药性和抗性水平转移的一个重要的因素,因此,控制污水处理过程中细菌整合子的扩散和水平转移是关键。部分学者认为在污水处理过程中细菌整合子有所减少,但是不能有效地完全被去除。比如,Mokracka 等^[43]从采用活性污泥法处理工艺的某个污水处理厂不同处理工艺阶段中分离出了 1 832 株可培养菌,其中 12.1% 携带整合子,进水、曝气池和出水中携带整合细菌的比例分别为 22.3%、4.8% 和 9.0%。虽然细菌整合子的量有所减少,但是耐药菌多重耐药性增加了,给接纳水体带来了不良的影响。Da Silva 等^[44]调研了葡萄牙北部某污水处理厂,该污水处理厂主要采用活性污泥法处理工艺,水力停留时间为 12 h,通过采样调研发现进水和出水中携带 β -内酰胺酶类整合子的埃希氏肠杆菌比例分别为 10% 和 9.6%,该污水处理厂对细菌整合子没有显著的去除效果。Li 等^[45]在某污水处理厂中分离的可培养细菌,发现出水中细菌整合子的比例为 14%,接纳河下游河水中细菌整合子的比例为 9.1%,但是在接纳河上游并没有发现细菌整合子的存在,说明细菌整合子没有被有效去除,给接纳河带来了不良的影响。Pellegrini 等^[46]从意大利某城市污水处理厂中分离出 471 株肠杆菌,发现在进水中肠杆菌携带 β -内酰胺酶类整合子和 β -内酰胺酶类整合子的比例分别为 8%、5%,而出水中肠杆菌携带 β -内酰胺酶类整合子和 β -内酰胺酶类整合子的比例分别为 3% 和 1%。

也有部分学者研究发现,在污水处理过程中携带整合子的耐药菌不但没有被去除,反而增加了。例如,Moura 等^[34]发现葡萄牙某屠宰污水处理厂的曝气池中携带整合子的耐药菌比例高达 60%,而进水和出水中携带整合子的耐药菌比例分别为 10% 和 40%,出水中携带整合子的耐药菌的量明显增加了。Ma 等^[47]从南京江心洲某污水处理厂中分离出大肠杆菌、气单胞菌、克雷伯氏菌(*Klebsiella* spp.)、中间气单胞菌(*Aeromonas media*)、杀鲑胞菌(*Aeromonas salmonicida*)等共 189 株,其中 57 株携带 β -内酰胺酶类整合子,并且发现在进水、活性污泥和出水中细菌整合子的比例分别为 20%、30.9%、38.9%。根据已有的研究结果出现了一个有趣的现象:活性污泥处理过程中环境样品中的一

些微生物包括致病菌、整合子和基因盒都能有效地被去除,但环境样品中细菌整合子却不能被有效地去除。例如 Zhang 等^[48]发现香港和上海某污水处理厂活性污泥法处理过程中对 类整合子和相关基因盒的去除率高达 90%。Fars 等^[49]调研了半干旱地区某污水处理厂活性污泥处理过程中粪大肠耐药菌的转归特征,发现在活性污泥法处理系统中干化床之后耐药粪大肠菌群去除率高达 99.99%。而 Ma 等^[47]却发现在活性污泥法处理之后细菌整合子的量却增多了,作者认为可能的原因是活性污泥中的高生物量和生物多样性促使了携带整合子的耐药菌进行水平转移,从而导致了耐药菌增多^[49-50]。Chang 等^[51]比较了 1993 年和 2004 年台湾某医院废水中克雷伯氏肺炎菌携带 I 类整合子和基因盒的变化,结果表明整合子携带率提高了,出现了新型的基因盒 *aac(6)-Ib-cr*,整合子不断进化,耐药菌的耐药能力不断增强。Moura 等^[52]在污水处理过程中发现了 3 种新的基因盒(*aadA17*、*dycA*、*orfER.17:ISAs12*),作者认为污水处理厂可能是新型基因盒形成的重要环境,整合子进化携带的基因越多,耐药菌特别是病原耐药菌多重耐药性不断增强。

综上所述,细菌整合子从污水处理厂排放到环境中,不仅影响接纳水体环境中细菌群落结构的变化,破坏细菌群落的生态稳定,还将给人类健康带来潜在的风险,然而污水处理厂对细菌整合子的去除效果还不明确,不仅需要深入研究细菌整合子在污水处理过程的迁移转化,而且迫切需求提高细菌整合子的污染控制水平。

3 污水处理过程中细菌整合子的去除机制研究

控制和去除细菌整合子,了解耐药菌中整合子的去除机制最为关键。细菌抗性水平转移的主要原因可能与整合子有关。目前已有许多学者对耐药菌中整合子捕获基因盒的机制进行了深入的研究。例如杨泽华^[53]利用不同长度的基因盒检测整合子的整合率,结果显示切除频率波动在 3.08×10^{-2} 和 1.08×10^{-2} 之间,而没有整合酶高表达的背景下频率低为 2.38×10^{-7} ,对于不同长度基因盒的整合频率波动在 8.18×10^{-5} 和 1.39×10^{-6} 之间。随着基因盒长度的增加,整合频率明显地降低,这表明整合酶催化的基因盒切除反应对基因盒的长度不敏感,而对整合酶催化的整合率影响较大,并且一定的抗生素浓度对整合子的整合率也有影响。曹建波^[54]对大肠杆菌整合酶基因 *int11* 进行碱基缺失突变,发现缺失的几个位点后,整合酶基因与原来的基因 *int11* 同源性高达 99%,并且仍具有原来的抗性,这表明整合酶基因的完整性对大肠杆菌耐药性和

多重耐药性无明显影响,虽然结果无法揭示整合酶完整性和耐药性间的联系,但是可为以后进一步研究细菌整合、捕获和传播抗性基因提供了新的思路和方向。于是就有学者对基因盒结构方面入手,陈晓耘^[55]研究了临床多重耐药铜绿假单胞菌中 VEB-1 基因盒结构及其对整合子捕获频率的影响,结果表明基因盒 IS1999 结构可阻断有效整合的途径,阻止整合子捕获其他基因盒,从而保持 VEB-1 在整合子的优势位置。同时还比较了不同 *attC* 位点结构对 VEB-1 基因盒整合效率的影响,结果表明,整合效率与 *attC* 存在一定关系,而与编码的序列关系不明显。但 Bouvier 等^[56]认为 *attC* 位点在整合子捕获基因进行水平转移过程中占有重要的地位。为了更进一步研究整合子,Yang 等^[57]研究出一种新的基于 PCR 快速检测整合子的整合率的方法。胡敏等^[58]借鉴此方法,通过测定在不同培养时间下大肠杆菌 BL21(DE3)中整合子的整合频率,大肠杆菌 BL21(DE3)中整合子在 12 h 和 24 h 整合频率均值分别为 5.51×10^{-5} 和 1.82×10^{-4} ,这结果表明随着培养时间的延长,营养物质的消耗,大肠杆菌启动与饥饿应激相关基因表达的调控系统,转录水平增高,整合频率也相应提高,同时表现出抗生素耐药性的提高,由此推断饥饿应激是影响整合子捕获耐药性基因盒频率的因素之一。但是在饥饿应激下,宿主通过体内一些因子表达的调节,进而提高捕获基因盒频率的整体机制还不清楚。SOS 应激反应受不同因素的诱导,比如环境因子、抗生素的刺激等,Beaber 等^[59]研究发现 SOS 应激反应能促进抗性基因的水平转移。近年来也有研究表明胁迫因子可通过多种机制诱导抗性基因转移,例如,DNA 损伤可导致细菌产生 SOS 应激反应,进而诱导接合 DNA 介导的抗性基因转移;在一些缺乏 SOS 系统的细菌中,抗生素胁迫可诱导细菌建立自然转化感受态^[60]。虽然很多学者已经对整合子捕获基因的机制进行了各种研究,但是,目前还没有得到一个全面清晰的机制,有待深入研究。

4 结语和展望

尽管近年来有关细菌整合子的研究越来越多,但由于不同环境中耐药菌整合子的状况不同,导致其在污水处理过程的结果不尽相同,并且目前有关污水处理过程中耐药菌整合子的去除效果和去除机制的研究还非常缺乏。因此,今后污水处理过程中细菌整合子的研究重点如下:

(1)加强污水处理过程中细菌整合子的分布特征及其影响因素的研究。如抗生素残留量、污水生物处理系统中生物多样性和生物量等对细菌整合子的影

响。

(2)重点研究污水处理工艺对细菌整合子的去除效果,探讨适宜的处理工艺,并优化工艺操作参数,有效去除耐药菌整合子。

(3)深入探讨污水处理过程中细菌整合子进行水平转移的机制,研究整合子捕获基因盒的生物学机理,降低整合子捕获基因盒的能力,从而有效消滅多重耐药菌,为去除携带整合子的耐药菌提供科学依据。

【参考文献】

- [1] Borg M A, Zarb P, Scicluna E A, et al. Antibiotic consumption as a driver for resistance in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* within a developing region[J]. American Journal of Infection Control, 2010, 38(3): 212–216.
- [2] Shryock T R, Richwine A. The interface between veterinary and human antibiotic use[J]. Antimicrobial Therapeutics Reviews, 2010: 92–105.
- [3] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment[J]. Ecological Indicators, 2008, 8(1): 1–13.
- [4] Kuemmerer K. Antibiotics in the aquatic environment—a review—Part I[J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 435–441.
- [5] Milic N, Milanovic M, Letic N G, et al. Occurrence of antibiotics as emerging contaminant substances in aquatic environment[J]. International Journal of Environmental Health Research, 2013, 23(4): 296–310.
- [6] 雷连成. 动物细菌病也“疯狂”——洞察探索诱发耐药菌的人为成因[J]. 中国动物保健, 2008(1):46–49.
Lei Liancheng. Animal bacterial disease also "crazy"—insight to explore artificially induced resistant bacteria cause[J]. Journal of China Animal Health, 2008(1): 46–49. (in Chinese)
- [7] 董丽, 刘彦良. 共同关注超级耐药菌[J]. 中国卫生产业, 2011 (Z4): 121.
Dong Li, Liu Yanliang. Mutual concern of XDR microbes[J]. China's Health Industry, 2011(Z4):121. (in Chinese)
- [8] 戴德银, 康晓曦, 张燕. "超级细菌"现状及防治对策[J]. 现代临床医学, 2010(6): 414–415.
Dai Deyin, Kang Xiaoxi, Zhang Yan. Status quo and counter-measures of superbugs[J]. Modern Clinical Medicine, 2010(6): 414–415. (in Chinese)
- [9] Yang Y, Li B, Ju F, et al. Exploring variation of antibiotic resistance genes in activated sludge over a four-year period through a metagenomic approach[J]. Environmental Science and Technology, 2013, 47(18): 10197–10205.
- [10] Zhang T, Zhang X X, Ye L. Plasmid metagenome reveals high levels of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in activated sludge[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26041.
- [11] Mazel D. Integrons: agents of bacterial evolution[J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(8): 608–620.
- [12] Collis C M, Hall R M. Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons[J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1995, 39(1): 155–162.
- [13] Nemergut D R, Robeson M S, Kysela R F, et al. Insights and inferences about integron evolution from genomic data [J]. Bmc Genomics, 2008, 9.
- [14] Alekshun M N, Levy S B. Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance[J]. Cell, 2007, 128(6): 1037–1050.
- [15] Xu Z, Li L, Shi L, et al. Class 1 integron in staphylococci[J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(8): 5261–5279.
- [16] Alonso A, Sanchez P, Martinez J L. Environmental selection of antibiotic resistance genes[J]. Environmental Microbiology, 2001, 3(1):1–9.
- [17] Baquero F, Martinez J L, Canton R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2008, 19(3): 260–265.
- [18] Summers A O. Genetic linkage and horizontal gene transfer, the roots of the antibiotic multi-resistance problem[J]. Animal Biotechnology, 2006, 17(2): 125–135.
- [19] Mezrioui N, Oufdou K. Abundance and antibiotic resistance of non-O1 *Vibrio cholerae* strains in domestic wastewater before and after treatment in stabilization ponds in an arid region (Marrakesh, Morocco) [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1996, 21(4): 277–284.
- [20] Droge M, Puhler A, Selbitschka W. Horizontal gene transfer as a biosafety issue: a natural phenomenon of public concern [J]. Journal of Biotechnology, 1998, 64(1): 75–90.
- [21] Droge M, Puhler A, Selbitschka W. Horizontal gene transfer among bacteria in terrestrial and aquatic habitats as assessed by microcosm and field studies[J]. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29(3): 221–245.
- [22] Helt C D, Weber K P, Legge R L, et al. Antibiotic resistance profiles of representative wetland bacteria and faecal indicators following ciprofloxacin exposure in lab-scale constructed mesocosms[J]. Ecological Engineering, 2012, 39:113–122.
- [23] Servais P, Passerat J. Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine river watershed (France) [J]. Science of the Total Environment, 2009, 408(2): 365–372.
- [24] Schwartz T, Kohlen W, Jansen B, et al. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water and drinking water biofilms[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(3): 325–335.
- [25] Chen J, Su Z, Liu Y, et al. Identification and characterization of Class 1 integrons among *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients in Zhenjiang, China [J]. International Journal of Infectious Diseases, 2009, 13(6): 717–721.
- [26] Rojo Bezares B, Estepa V, Cebollada R, et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains from a Spanish hospital: characterization of metallo-beta-lactamases, porin O-

- prD and integrons [J]. International Journal of Medical Microbiology: IJMM, 2014, 304(3/4): 405–414.
- [27] Yang H, Pan Y, Hu L, et al. Antimicrobial resistance patterns and characterization of integrons in clinical isolates of *Shigella* from China[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2014, 60(4): 237–242.
- [28] Mokracka J, Koczura R, Pawlowski K, et al. Resistance patterns and integron cassette arrays of *Enterobacter cloacae* complex strains of human origin[J]. Journal of Medical Microbiology, 2011, 60(6): 737–743.
- [29] Koczura R, Mokracka J, Jablonska L, et al. Antimicrobial resistance of integron-harboring *Escherichia coli* isolates from clinical samples, wastewater treatment plant and river water[J]. Science of the Total Environment, 2012, 414: 680–685.
- [30] Skurnik D, Lacheeb S, Bernede C, et al. Integrons and antibiotic resistance in phylogenetic group B2 *Escherichia coli*[J]. Microbial Drug Resistance, 2009, 15(3):173–178.
- [31] Marathe N P, Regina V R, Walujkar S A, et al. A treatment plant receiving wastewater from multiple bulk drug manufacturers is a reservoir for highly multi-drug resistant integron-bearing bacteria[J]. Plos One, 2013, 8(10):e77310.
- [32] Igbinsola I H, Okoh A I. Antibiotic susceptibility profile of aeromonas species isolated from wastewater treatment plant [J]. Scientific World Journal, 2012(7):2425–2437.
- [33] Ferreira Da Silva M, Vaz Moreira I, Gonzalez Pajuelo M, et al. Antimicrobial resistance patterns in *Enterobacteriaceae* isolated from an urban wastewater treatment plant [J]. FEMS Microbiol Ecology, 2007, 60(1): 166–176.
- [34] Moura A, Henriques I, Ribeiro R, et al. Prevalence and characterization of integrons from bacteria isolated from a slaughterhouse wastewater treatment plant[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2007, 60(6): 1243–1250.
- [35] Ndi O L, Barton M D. Incidence of Class 1 integron and other antibiotic resistance determinants in *Aeromonas* spp. from rainbow trout farms in Australia[J]. Journal of Fish Diseases, 2011, 34(8): 589–599.
- [36] Sarria Guzman Y, Patricia Lopez Ramirez M, Chavez Romero Y, et al. Identification of antibiotic resistance cassettes in Class 1 integrons in *Aeromonas* spp. strains isolated from fresh fish(*Cyprinus carpio* L.)[J]. Current Microbiology, 2014, 68(5): 581–586.
- [37] Schmidt A S, Bruun M S, Dalsgaard I, et al. Incidence, distribution, and spread of tetracycline resistance determinants and integron-associated antibiotic resistance genes among motile aeromonads from a fish farming environment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(12): 5675–5682.
- [38] Melendez S N, Hanning I, Han J, et al. *Salmonella enterica* isolates from pasture-raised poultry exhibit antimicrobial resistance and Class I integrons[J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 109(6): 1957–1966.
- [39] Wang C, Dang H, Ding Y. Incidence of diverse integrons and beta-lactamase genes in environmental *Enterobacteriaceae* isolates from Jiaozhou Bay, China[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2008, 24(12): 2889–2896.
- [40] Yin Q, Yue D, Peng Y, et al. Occurrence and distribution of antibiotic-resistant bacteria and transfer of resistance genes in Lake Taihu[J]. Microbes and Environments, 2013, 28(4):479–486.
- [41] Mukherjee S, Chakraborty R. Incidence of class 1 integrons in multiple antibiotic-resistant gram-negative copiotrophic bacteria from the River Torsa in India[J]. Research in Microbiology, 2006, 157(3): 220–226.
- [42] Pitondo Silva A, Martins V V, Tonelli Fernandes A F, et al. High level of resistance to Aztreonam and Ticarcillin in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from soil of different crops in Brazil [J]. Science of the Total Environment, 2014, 473: 155–158.
- [43] Mokracka J, Koczura R, Kaznowski A. Multiresistant *Enterobacteriaceae* with Class 1 and Class 2 integrons in a municipal wastewater treatment plant[J]. Water Research, 2012, 46(10): 3353–3363.
- [44] Da Silva M F, Vaz Moreira I, Gonzalez Pajuelo M, et al. Antimicrobial resistance patterns in *Enterobacteriaceae* isolated from an urban wastewater treatment plant[J]. Fems Microbiology Ecology, 2007, 60(1): 166–176.
- [45] Li D, Yang M, Hu J Y, et al. Antibiotic-resistance profile in environmental bacteria isolated from penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(6): 1506–1517.
- [46] Pellegrini C, Celenza G, Segatore B, et al. Occurrence of Class 1 and 2 integrons in resistant enterobacteriaceae collected from an urban wastewater treatment plant: first report from central Italy[J]. Microbial Drug Resistance, 2011, 17(2): 229–234.
- [47] Ma L, Zhang X X, Cheng S, et al. Occurrence, abundance and elimination of Class 1 integrons in one municipal sewage treatment plant[J]. Ecotoxicology, 2011, 20(5): 968–973.
- [48] Zhang X X, Zhang T, Zhang M, et al. Characterization and quantification of Class 1 integrons and associated gene cassettes in sewage treatment plants[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 82(6): 1169–1177.
- [49] Fars S, Oufdou K, Nejmeddine A, et al. Antibiotic resistance and survival of faecal coliforms in activated sludge system in a semi-arid region (Beni Mellal, Morocco)[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2005, 21(4): 493–500.
- [50] Auerbach E A, Seyfried E E, McMahon K D. Tetracycline resistance genes in activated sludge wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2007, 41(5): 1143–1151.
- [51] Chang C Y, Fang Y T, Tsai S M, et al. Characterization of class 1 integrons and gene cassettes in clinical isolates of

- Klebsiella pneumoniae* from Taiwan[J]. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 2009, 65(2): 214–216.
- [52] Moura A, Pereira C, Henriques I, et al. Novel gene cassettes and integrons in antibiotic-resistant bacteria isolated from urban wastewaters[J]. Research in Microbiology, 2012, 163(2): 92–100.
- [53] 杨泽华. 整合子捕获基因盒效率调控机制研究[D]. 上海: 复旦大学, 2008.
Yang Zehua. Research of Regulation Mechanism for Integron Capturing Gene Cassettes[D]. Shanghai: Fudan University, 2008. (in Chinese)
- [54] 曹建波. 猪源大肠杆菌整合酶基因 *intI1* 碱基缺失对细菌耐药性的影响研究[D]. 重庆: 西南大学, 2008.
Cao Jianbo. Studies on the Impact of *E. coli* Drug Resistance with Basic Groups Hiatus of Integrase Gene *intI1*[D]. Chongqing: Southwest University, 2008. (in Chinese)
- [55] 陈晓耘. 临床多重耐药铜绿假单胞菌中 VEB-1 基因盒结构及其对整合子捕获频率影响的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2010.
Chen Xiaoyun. Study on the VEB-1 Gene Cassette in Clinical Pan-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the Impact of Its Structure on the Integration of Sub-frequency Capture [D]. Shanghai: Fudan University, 2010. (in Chinese)
- [56] Bouvier M, Ducos-Galand M, Loot C, et al. Structural features of single-stranded integron cassette attc sites and their role in strand selection[J]. Plos Genetics, 2009, 5(9).
- [57] Yang Z, Jiang X, Wei Q, et al. A novel and rapid method for determining integration frequency catalyzed by integron integrase *intI1*[J]. Journal of Microbiological Methods, 2009, 76(1): 97–100.
- [58] 胡敏, 杨泽华, 赵克斌. 饥饿应激对整合子捕获耐药性基因盒频率影响的研究[J]. 中国药物与临床, 2013(7): 837–840.
Hu Min, Yang Zehua, Zhao Kebin. Effects of hunger stress on the frequency of integron capturing resistance gene cassette[J]. Journal of Chinese Medicine and Clinical, 2013(7): 837–840. (in Chinese)
- [59] Beaber J W, Hochhut B, Waldor M K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes [J]. Nature, 2004, 427(6969): 72–74.
- [60] 孙东昌, 王兵, 竺利红. 胁迫诱导抗性基因转移导致细菌耐药的分子机制研究进展[J]. 微生物学报, 2013(7): 641–647.
Sun Dongchang, Wang Bing, Zhu Lihong. Molecular mechanism of stress inducible resistance gene transfer to the bacterial drug resistance[J]. Journal of Microbiology, 2013(7): 641–647. (in Chinese)