

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190301001

梁杰, 张崇森, 朱聪聪, 等. 不同补给水源的城市人工湖中异养菌耐药性及耐药菌种属分布研究[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(1): 193-200

Liang J, Zhang C M, Zhu C C, et al. Resistance to antibiotics of heterotrophic bacteria from urban artificial lakes with different recharge sources and their species distribution [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(1): 193-200 (in Chinese)

不同补给水源的城市人工湖中异养菌耐药性及耐药菌种属分布研究

梁杰, 张崇森*, 朱聪聪, 姬智乙, 张佩佩, 苏露馨

西安建筑科技大学, 陕西省环境工程重点实验室, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055

收稿日期: 2019-03-01 录用日期: 2019-04-17

摘要: 为了阐明不同补给水源的城市人工湖中异养菌耐药状况和耐药菌种属分布特征, 选取分别以地表水和再生水为补水来源的 XQ 湖和 FQ 湖为代表进行研究。从 2018 年 4—11 月逐月采集水样, 考察了各水样中对氨苄西林(AMP)、磺胺甲恶唑(SMZ)和四环素(TET)这 3 种不同种类抗生素具有耐药性的异养菌含量, 并对分离菌株的耐药表型、耐药菌株的种属分布以及水质理化指标进行了分析。结果表明, 2 处人工湖中的 AMP 耐药菌和 SMZ 耐药菌含量约为 $10^2 \sim 10^4$ CFU·(100 mL)⁻¹, 而 TET 耐药菌含量则约 $10^1 \sim 10^3$ CFU·(100 mL)⁻¹。分离出的 84 株耐药菌归属于 19 个种, 其中蜡状芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、维氏气单胞菌、豚鼠气单胞菌和鸟氨酸拉乌尔菌为 2 个湖共有耐药菌。71.4% 的耐药菌都是对 AMP 单一耐药, 以蜡状芽孢杆菌为主。由于具有固有耐药性的细菌在分离出的耐药菌中占比很低, 获得性耐药很可能在城市人工湖中异养菌耐药性的发展上发挥了主要贡献作用。地表水补水的 XQ 湖和再生水补水的 FQ 湖在总异养菌含量、耐药菌含量和检出率上均无显著差异。分离来源对 16 株耐药性气单胞菌的聚类无明显影响。

关键词: 城市人工湖; 耐药菌; 种属分布; 获得性耐药; 补给水源

文章编号: 1673-5897(2020)1-193-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Resistance to Antibiotics of Heterotrophic Bacteria from Urban Artificial Lakes with Different Recharge Sources and Their Species Distribution

Liang Jie, Zhang Chongmiao*, Zhu Congcong, Ji Zhiyi, Zhang Peipei, Su Luxin

Shaanxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China

Received 1 March 2019 accepted 17 April 2019

Abstract: In order to clarify the antibiotic resistance of heterotrophic bacteria and the distribution characteristics of antibiotic-resistant bacteria in urban artificial lakes supplemented with different water sources, XQ Lake and FQ Lake, which are supplemented with surface water and reclaimed water respectively, were selected as representative urban artificial lakes for research. From April to November 2018, we collected water samples from two lakes each month and investigated the concentration of heterotrophic bacteria resistant to three different antibiotics including ampicillin (AMP), sulfamethoxazole (SMZ) and tetracycline (TET). The antibiotic-resistant phenotype of isolated

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51578441)

作者简介: 梁杰(1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境耐药微生物的风险控制, E-mail: 15353687519@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: cmzhang@xauat.edu.cn

strains and the species distribution of antibiotic-resistant strains, as well as physical and chemical indicators of water quality were analyzed. The results showed that the concentration of AMP-resistant bacteria and SMZ-resistant bacteria in two artificial lakes was about $10^2 \sim 10^4$ CFU·(100 mL)⁻¹, while the concentration of TET-resistant bacteria was about $10^1 \sim 10^3$ CFU·(100 mL)⁻¹. The 84 antibiotic-resistant strains isolated belonged to 19 species, among which *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas venroii*, *Aeromonas caviae*, *Raoultella ornithinolytica* were antibiotic-resistant bacteria shared by the two lakes. 71.4% of the antibiotic-resistant bacteria are mono-resistant to AMP, mainly *Bacillus cereus*. Due to very low percentage of bacteria with intrinsic antibiotic resistance in isolated antibiotic-resistant bacteria, it suggested that acquired antibiotic resistance had mainly contributed to the development of antibiotic resistance in heterotrophic bacteria in urban artificial lakes. There was no significant difference in the total heterotrophic bacteria concentration, antibiotic-resistant bacteria concentration and detection rate between the XQ Lake supplemented by surface water and the FQ Lake supplemented by reclaimed water. The source of isolation had no significant effect on the clustering of 16 strains of resistant *Aeromonas*.

Keywords: urban artificial lake; antibiotic-resistant bacteria; species distribution; acquired antibiotic resistance; recharge source

人工湖作为现代城市的重要组成部分,不仅能增加水汽循环、调节区域气候,而且其景观娱乐功能也随着人们生活水平的提高显得愈发重要^[1]。地表水因取用方便,水质稳定等优点,是人工湖的主要补给水源,但这对于缺水城市来说却是沉重的负担^[2]。随着水资源供需矛盾的日益加剧以及污水再生处理技术的日臻完善,再生水作为城市人工湖的补给水源逐渐受到青睐^[3-4]。北京奥林匹克公园的龙形水系^[5]、天津生态湿地公园^[6]和昆明的翠湖^[7]都是再生水应用于城市人工湖的典型代表。

近年来的研究发现,城市地表水体可能是细菌耐药性传播的重要媒介^[8-9]。城市人工湖耐药菌污染状况不仅关系到生态环境,也在一定程度上影响着社会公众的身体健康^[10]。然而,目前我国在城市人工湖细菌耐药性污染方面的研究还处于起步阶段,污染特征和内在规律尚不甚清楚^[11]。使用地表水和再生水作为补给水源,对人工湖的细菌耐药特性以及耐药菌多样性会产生何种影响,是否会造成差异化的结果,这些问题都亟待阐明。

本研究选取分别以地表水和再生水补水的2处人工湖为研究对象,通过长期取样检测,系统考察了人工湖中总异养菌群对常见抗生素的耐药状况,并对分离菌株进行耐药表型分析和种属鉴定。以期揭示不同补给水源对人工湖中细菌耐药性和耐药菌种属分布的影响,为城市水环境中细菌耐药性传播控制提供科学依据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 水样采集

选择西安市的XQ湖和FQ湖为研究对象,这2

处人工湖坐落于西安市主城区的2处公园内,具有景观和娱乐功能。XQ湖水面积约 1.0×10^5 m²,平均水深2 m,地表水是其补水来源,FQ湖水面积约为 4.0×10^4 m²,平均水深1.5 m,使用再生水补水。2018年4—11月,对这2处人工湖逐月进行水样采集。使用1 L水样采集器在水面下大约0.5 m处采样,每个人工湖设置5个采样点,采集5 L混合水样,置于预先灭菌的聚乙烯瓶中,在6 h内送回实验室分析。

1.2 水质指标测定

按照文献[12]中的方法检测2个人工湖水样的pH、溶解氧(DO)、化学需氧量(COD)、氨氮(NH₄⁺-N)、总氮(TN)和总磷(TP)等常规理化指标。

1.3 异养菌和耐药菌含量测定

使用滤膜法对水样中的异养菌进行计数^[13]。将水样梯度稀释后,真空抽滤通过0.45 μm孔径的混合纤维素滤膜,将滤膜细菌截留面向上紧密贴在PCA培养平板上,30℃培养24 h,对菌落数量为20~200的培养平板进行菌落计数,每次检测做2个平行样。使用菌落数量的平均值计算出每100 mL水样中的异养菌数量。根据美国临床和实验室标准协会(CLSI 2017)标准^[14],在PCA平板中分别加入氨苄西林(AMP)、磺胺甲恶唑(SMZ)和四环素(TET)制备出AMP、SMZ和TET抗性平板,其中相应抗生素质量浓度分别为32、512和16 μg·mL⁻¹。类似地,使用滤膜法测定水样中的耐药菌,计算得到水样中AMP耐药菌、SMZ耐药菌和TET耐药菌的含量。

1.4 菌株分离纯化与耐药表型检测

随机挑取PCA平板上的菌落,平板划线进行分

离纯化。采用 K-B 纸片琼脂扩散法对分离菌株进行药敏试验,使用游标卡尺测量抑菌环直径,根据 CLSI 标准判定其是否为耐药菌。3 种药敏纸片中的抗生素含量为:AMP, $10 \mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$; SMZ, $300 \mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$; TET, $30 \mu\text{g} \cdot \text{片}^{-1}$ 。使用大肠埃希氏菌 ATCC25 922 作为质控菌株。将分离所得的耐药菌逐一编号,菌株编号上的“XQ”和“FQ”代表其来源人工湖。

1.5 菌株种属鉴定

针对分离菌株中的耐药菌,使用细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (TaKaRa MiniBEST Bacterial Genomic DNA Extraction Kit Ver.3.0, TaKaRa 公司) 提取总 DNA。选择通用引物 27 F 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' 和 1492 R 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 以及 516 F 5'-TGCCAGCAGCCGCGGTA-3' 和 1510 R 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3', 使用梯度 PCR 仪 (Veriti 型, 美国 Applied Biosystem 公司) 对 16S rDNA 进行 PCR 扩增^[15-16], 反应程序:94 °C 预变性 5 min; 35 个循环:94 °C 变性 60 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 90 s; 72 °C 延伸 5 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳 (JY300C 型, 北京君意东方电泳设备有限公司) 初步判定, 然后送交上海生工生物工程技术有限公司测序。使用 BLAST 对测序结果在 GenBank 数据库中进行序列比对, 确认其种属。

1.6 统计分析

使用 SPSS Statistics 18.0 软件对常规理化指标、总异养菌群含量、耐药菌含量和分离出的耐药菌比例进行均值比较、相关性分析。用 MEGA 7 软件对耐药菌株中的气单胞菌属进行聚类分析, 构建进化树。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 人工湖水体的常规理化指标

为对比 2 个人工湖水水质存在的差异, 本研究利

用 *t* 检验对 XQ 湖和 FQ 湖 2018 年 4—11 月的水样中 pH、DO、COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 TP 的具体数值进行了对比。结果如表 1 所示, XQ 湖和 FQ 湖水样的 pH、DO 和 TP 存在显著性差异 ($P < 0.05$), XQ 湖的水样 pH、DO 的平均值分别为 8.35 和 $7.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 低于 FQ 湖的 8.78 和 $9.74 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 而 XQ 湖的 TP 的平均值为 $0.069 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 高于 FQ 湖的 $0.032 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。2 处人工湖的其他理化指标并无显著性差异。

2.2 人工湖中总异养菌及耐药菌含量

XQ 湖和 FQ 湖中的总异养菌含量分别维持在 $10^4 \sim 10^6$ 和 $10^3 \sim 10^5 \text{ CFU} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ 范围内, 平均值分别为 3.17×10^5 和 $1.75 \times 10^5 \text{ CFU} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ 。这 2 处人工湖中的 AMP 耐药菌、SMZ 耐药菌含量都约为 $10^2 \sim 10^4 \text{ CFU} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$, 而 TET 耐药菌含量则约为 $10^1 \sim 10^3 \text{ CFU} \cdot (100 \text{ mL})^{-1}$ (图 1)。可以看出, 3 种耐药菌的含量在 2 处人工湖中都呈现出相似的规律。在采样期的大多数月份中, XQ 湖中的总异养菌和 3 种耐药菌含量都高于 FQ 湖, 但在 9 月份这一关系却出现了反转, 这可能与当时持续多日的降雨有关。连续降雨形成地表径流, 冲刷周边路面和表层土壤, 将其中的细菌引入水体^[17], 造成总异养菌和耐药菌的检出率上升^[18]。FQ 湖由于湖面面积小, 储存的水量少, 并有景观喷泉运行, 阴雨天气时雨水和地表径流的汇入, 以及喷泉增加的水流扰动, 使其水体中总异养菌和耐药菌含量的变化较 XQ 湖更为显著。整体数据的统计分析结果表明, XQ 湖和 FQ 湖在总异养菌群、3 种耐药菌的含量上并不存在显著性差异 ($P > 0.05$); 此外, 在 FQ 湖中仅 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与总异养菌群、AMP 耐药菌和 TET 耐药菌含量呈显著正相关 ($P < 0.05$), 其余指标均与各种细菌含量之间不存在显著相关性 ($P > 0.05$); 而 XQ 湖的各指标与各种细菌含量之间均不存在显著相关性 ($P > 0.05$)。

表 1 XQ 湖和 FQ 湖常规理化指标的 *t* 检验结果

Table 1 The *t*-test results for conventional physical and chemical indicators in XQ Lake and FQ Lake

	pH	溶解氧	化学需氧量	氨氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$	总氮	总磷
		(DO)	(COD)		(TN)	(TP)
		Dissolved oxygen	Chemical oxygen demand		Total nitrogen	Total phosphorus
		(DO)	(COD)		(TN)	(TP)
XQ 湖/FQ 湖						
XQ Lake/FQ Lake	0.021	0.008	0.093	0.240	0.123	0.001

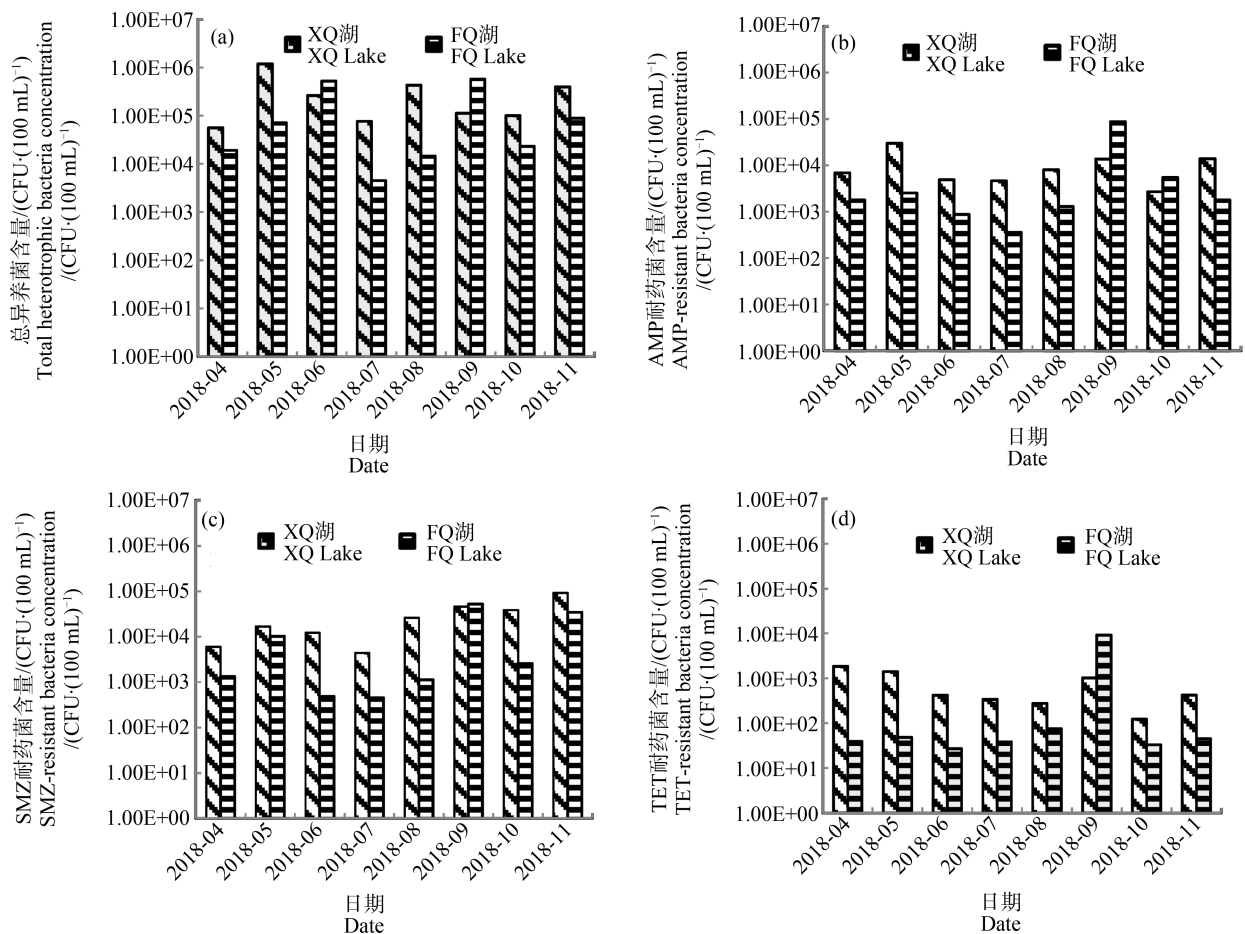


图1 人工湖中总异养菌和耐药菌含量

注:AMP表示氨苄西林,SMZ表示磺胺甲恶唑,TET表示四环素。

Fig. 1 Total heterotrophic bacteria and antibiotic-resistant bacteria concentration in artificial lakes

Note: AMP stands for ampicillin; SMZ stands for sulfamethoxazole; TET stands for tetracycline.

2.3 分离菌株的耐药表型

从XQ湖和FQ湖分别分离出61株和60株异养菌。药敏试验结果如表2所示,XQ湖中的AMP耐药菌、SMZ耐药菌和TET耐药菌的数量分别为37、11和9;FQ湖中这3种耐药菌的数量分别为42、11和5。显然,这2处人工湖分离菌株中的AMP耐药菌比例都较高(60.7%和70.0%),而TET耐药菌则占比较低(14.8%和8.3%),这与2处人工湖总异养菌群中AMP耐药菌和TET耐药菌含量高低状况基本吻合。对XQ湖和FQ湖每月分离出的3种耐药菌株检出率进行比较,未发现它们存在显著性差异($P>0.05$)。

根据化学结构和作用机制,AMP、SMZ和TET分别归属于 β -内酰胺类、磺胺类和四环素类抗生素,它们的抗菌机制各不相同:AMP主要是抑制菌体细胞壁的合成,SMZ抑制细菌叶酸合成过程中的

二氢蝶酸合酶,TET则是抑制细菌蛋白质合成,从而导致细菌无法生长繁殖^[9]。从XQ湖和FQ湖共分离出84株耐药菌,产生了5种耐药表型。如表2所示,对AMP单一耐药的占比高达71.4%,远高于其他表型;其次为AMP-SMZ-TET,占比14.3%;AMP-SMZ和SMZ单一耐药的占比都仅为6.0%;AMP-TET的最少,只有2.4%。由此可见,这2处人工湖中异养菌的耐药表型比较集中,对AMP单一耐药是其最主要的耐药表型。

2.4 耐药菌株的种属鉴定

分离出的84株耐药菌在生物分类学上归属于19个种。其中,XQ湖耐药菌39株,12个种;FQ湖耐药菌45株,12个种。蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*)、维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)、豚鼠气单胞菌(*Aeromonas caviae*)和鸟氨酸拉乌尔菌(*Raoultella ornithinolytica*)是2

个湖共有的耐药菌(图 2)。

从 XQ 湖分离的 AMP 耐药菌共有 10 个种,主要是蜡状芽孢杆菌,占比为 54.1%;SMZ 耐药菌和 TET 耐药菌分别有 8 个种和 5 个种,主要种属是肺炎克雷伯氏菌(*Klebsiella pneumoniae*)和大肠埃希氏菌。从 FQ 湖分离出的 AMP 耐药菌有 10 个种,蜡状芽孢杆菌仍是主要菌株,占比 54.8%;SMZ 耐药菌和 TET 耐药菌分别有 8 个种和 4 个种,主要为维氏气单胞菌和大肠埃希氏菌。一些研究表明,从临床和食物中分离出的蜡状芽孢杆菌对 β -内酰胺抗生素具有高度耐药性^[20],但对其他多种抗生素都敏感^[21]。这与本研究从人工湖中分离出的蜡状芽孢杆

菌的耐药特性近似。

对照已知的固有耐药菌谱^[14],可以发现从 XQ 湖和 FQ 湖中分离得到了一些对 AMP 的固有耐药菌,包括肺炎克雷伯氏菌、弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),但它们在分离菌株中的占比均不超过 10%。这 2 处人工湖分离出的菌株中均不存在对 SMZ 或 TET 的固有耐药菌。

结合上述耐药性异养菌群测定结果分析可知,获得性耐药很可能是城市人工湖中细菌耐药性的主要来源。很多研究都表明,人类活动对细菌耐药性

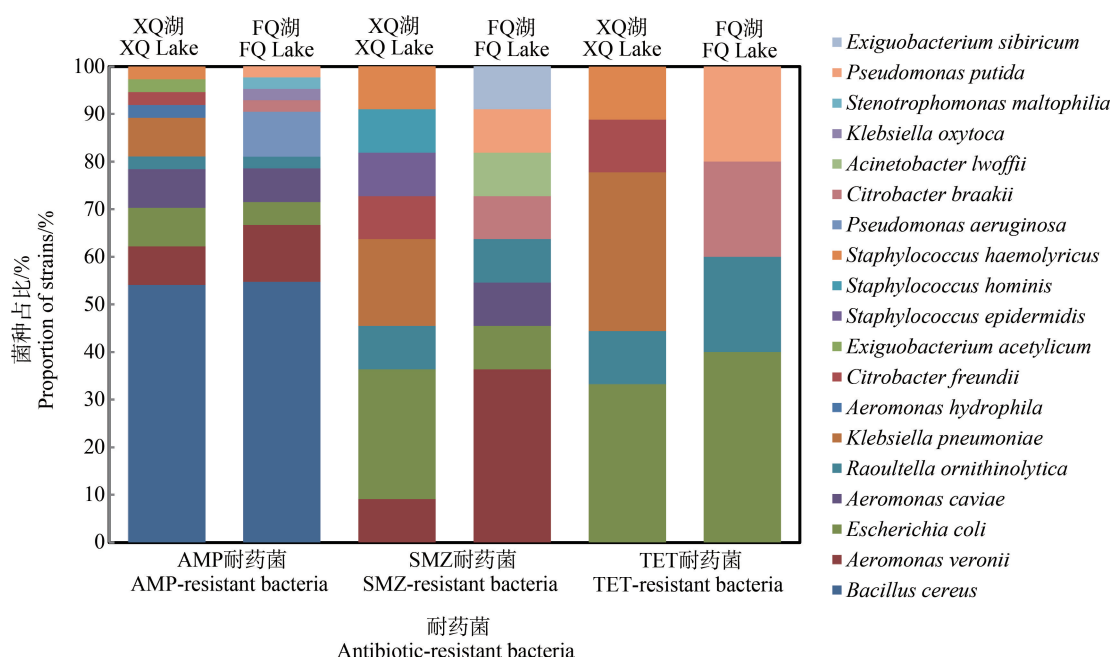


图 2 人工湖中分离的耐药菌株种属

Fig. 2 Species of antibiotic-resistant strains isolated from artificial lakes

表 2 XQ 湖和 FQ 湖分离菌株的耐药表型

Table 2 Antibiotic resistance phenotypes of isolates strains from XQ Lake and FQ Lake

耐药表型 Antibiotic resistance phenotypes	XQ 湖 XQ Lake		FQ 湖 FQ Lake		合计 Total	
	株 Strain	耐药菌占比/% Proportion of antibiotic-resistant bacteria/%	株 Strain	耐药菌占比/% Proportion of antibiotic-resistant bacteria/%	株 Strain	耐药菌占比/% Proportion of antibiotic-resistant bacteria/%
AMP	27	69.2	33	73.3	60	71.4
SMZ	2	5.1	3	6.7	5	6.0
AMP-SMZ	1	2.6	4	8.9	5	6.0
AMP-TET	1	2.6	1	2.2	2	2.4
AMP-SMZ-TET	8	20.5	4	8.9	12	14.3

的传播有重要贡献,在污水、地表水,甚至饮用水中都发现了多种抗生素抗性基因^[22-23]。此外,基因水平转移(horizontal gene transfer, HGT)在微生物群落中普遍存在,胞内 DNA 和胞外 DNA 都在细菌间的耐药性传播中发挥着重要作用^[24-25]。XQ 湖的补给水源为地表水,其在输送过程中流经村庄及农田时不可避免地会有耐药菌和耐药基因汇入,最终进入 XQ 湖;FQ 湖的补给水源为再生水,其由城市污水经深度处理所得,亦含有数量可观的耐药菌和耐药基因^[26]。耐药菌进入湖水后生长繁殖会增加这类耐药菌的数量;耐药基因的水平转移会扩大耐药菌的种属分布范围,二者都会导致人工湖总异养菌群耐药率的提高。此外,在 XQ 湖和 FQ 湖中分离出的耐药菌株中,大部分属于条件致病菌,有些在临床和环境样品中都经常检出,例如气单胞菌、葡萄球菌等。这在一定程度上也反映了人类活动与环境

之间的交互作用。

2.5 耐药性气单胞菌的聚类分析

气单胞菌属在环境中分布非常广泛,是水环境中的主要耐药菌群之一^[27]。从 XQ 湖和 FQ 湖中共分离出 16 株耐药性气单胞菌,分别归属于维氏气单胞菌、豚鼠气单胞菌和嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。通过聚类分析构建进化树(图 3),可以发现,大多数豚鼠气单胞菌 16S rDNA 序列的相似性极高。相比嗜水气单胞菌,维氏气单胞菌与豚鼠气单胞菌的关系更疏远,分离出的维氏气单胞菌在进化树中的亲缘关系也更为复杂。这些气单胞菌中有 10 株仅对 AMP 耐药,1 株(FQ80901)仅对 SMZ 耐药,5 株(XQ81001、FQ81003、FQ81001、FQ81004 和 FQ80903)对 AMP 和 SMZ 二重耐药。从进化树来看,除了属于豚鼠气单胞菌的 FQ80903 之外,其余 4 株二重耐药菌都是维氏气单胞菌,处在相近的分支

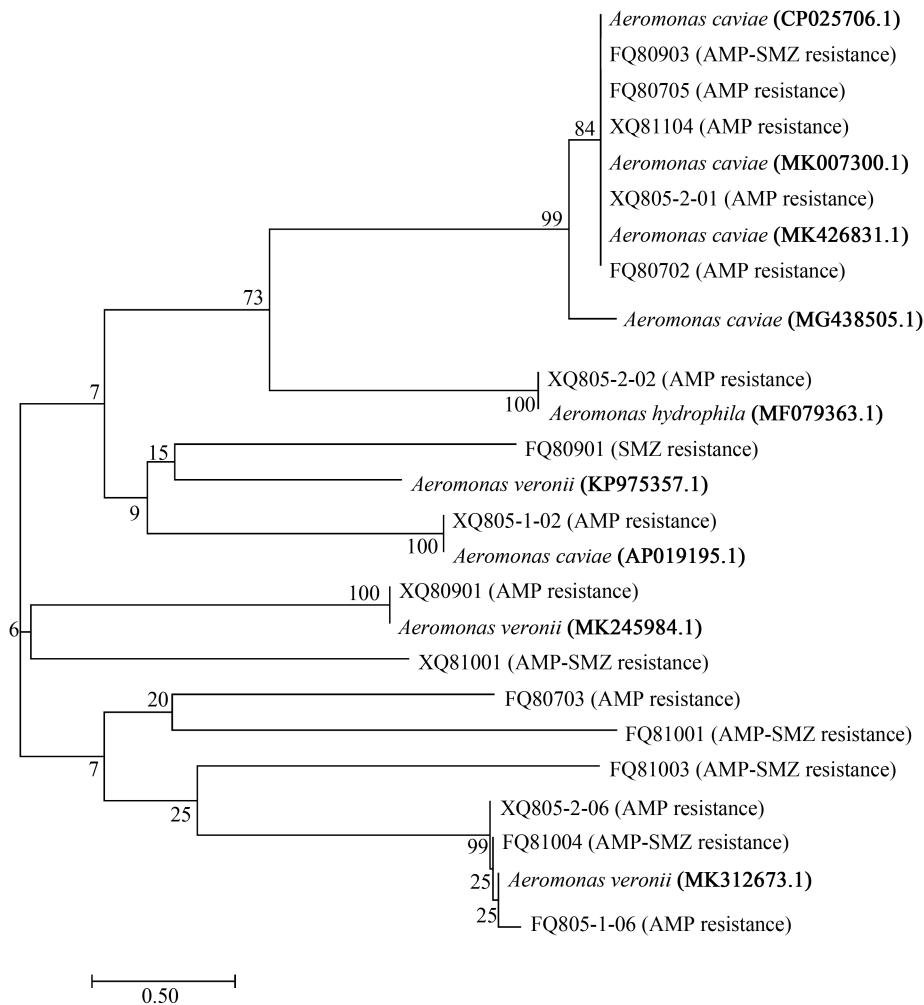


图3 耐药性气单胞菌属进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of antibiotic-resistant *Aeromonas*

上。总体来看, 维氏气单胞菌耐药谱较为多样, 而豚鼠气单胞菌耐药表型较单一。值得注意的是, 本研究并未发现分离来源对这些耐药性气单胞菌的聚类有明显影响, 例如 FQ80903、FQ80705、XQ81004 和 XQ805-2-01, 尽管来自 2 处不同的人工湖, 但它们在进化树中都在同一分支; 也没有发现某种来源的气单胞菌具有明显的耐药性聚类特征。

综上所述:

(1) XQ 湖和 FQ 湖中 AMP 耐药菌、SMZ 耐药菌含量约为 $10^2 \sim 10^4$ CFU·(100 mL)⁻¹, TET 耐药菌含量约为 $10^1 \sim 10^3$ CFU·(100 mL)⁻¹。2 个湖共分离出 84 株耐药菌, 71.4% 都是对 AMP 单一耐药。蜡状芽孢杆菌是主要的 AMP 耐药菌。

(2) 从 XQ 湖和 FQ 湖分离出的耐药菌归属于 19 个种, 其中蜡状芽孢杆菌、大肠埃希氏菌、维氏气单胞菌、豚鼠气单胞菌和鸟氨酸拉乌尔菌为 2 个湖共有耐药菌。仅有不足 10% 的细菌对 AMP 具有固有耐药性, 没有发现对 SMZ 和 TET 具有固有耐药性的菌种。获得性耐药很可能是城市人工湖中细菌耐药性的主要来源。

(3) 地表水补水的 XQ 湖和再生水补水的 FQ 湖在总异养菌含量、耐药菌含量和检出率上均无显著差异。进化树分析结果表明, 分离来源对 16 株耐药性气单胞菌的聚类并无明显影响。

通讯作者简介: 张崇森(1978—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为环境微生物的风险控制、污水处理与资源化。

参考文献 (References):

- [1] Chen Y, Niu Z, Zhang H. Eutrophication assessment and management methodology of multiple pollution sources of a landscape lake in North China [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2013, 20(6): 3877-3889
- [2] 郑剑锋, 孙力平, 邱春生, 等. 缺水城市大型景观内湖水水质联合优化控制模型[J]. *中国给水排水*, 2015(11): 47-50
Zheng J F, Sun L P, Qiu C S, et al. Model for combined control of water quality and quantity of largescale landscape lake in water-shortage city [J]. *China Water and Wastewater*, 2015(11): 47-50 (in Chinese)
- [3] Yi L, Jiao W, Chen X, et al. An overview of reclaimed water reuse in China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(10): 1585-1593
- [4] Ao D, Chen R, Wang X C, et al. On the risks from sediment and overlying water by replenishing urban landscape ponds with reclaimed wastewater [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 236: 488-497
- [5] Li D, Huang D, Guo C, et al. Multivariate statistical analysis of temporal-spatial variations in water quality of a constructed wetland purification system in a typical park in Beijing, China [J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, 187(1): 4219
- [6] 蒋云龙, 熊家晴, 王晓昌, 等. 再生水补水人工湖水域聚类划分及水质指标时空分布特征[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(10): 4746-4752
Jiang Y L, Xiong J Q, Wang X C, et al. Water fields cluster division and water quality indexes spatial and temporal distribution characteristics of an artificial lake complemented by reclaimed water [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, 9(10): 4746-4752 (in Chinese)
- [7] Chen R, Ao D, Ji J, et al. Insight into the risk of replenishing urban landscape ponds with reclaimed wastewater [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324: 573-582
- [8] Low A, Ng C, He J. Identification of antibiotic resistant bacteria community and a GeoChip based study of resistome in urban watersheds [J]. *Water Research*, 2016, 106: 330-338
- [9] Wang C, Gu X C, Zhang S, et al. Characterization of antibiotic-resistance genes in antibiotic resistance *Escherichia coli* isolates from a lake [J]. *Archives of Environmental Contamination & Toxicology*, 2013, 65(4): 635-641
- [10] Wang C C, Niu Z G, Zhang Y. Health risk assessment of inhalation exposure of irrigation workers and the public to trihalomethanes from reclaimed water in landscape irrigation in Tianjin, North China [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 262: 179-188
- [11] Pang Y C, Xi J Y, Li G Q, et al. Prevalence of antibiotic-resistant bacteria in a lake for the storage of reclaimed water before and after usage as cooling water [J]. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 2015, 17(6): 1182-1189
- [12] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第四版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 102-279
- [13] Novo A, André S, Viana P, et al. Antibiotic resistance, antimicrobial residues and bacterial community composition in urban wastewater [J]. *Water Research*, 2013, 47(5): 1875-1887
- [14] Fothergill A W. Antifungal Susceptibility Testing: Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) Methods [M]// Hall G S. Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents. Springer Nature, 2012: 30-35

- [15] Weisburg W G S, Barns S M, Pelletier D A, et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study [J]. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(2): 697-703
- [16] Mahendren G, Kumaresan A, Ansari M R, et al. Identification of culturable bacteria present in haemodialysis water and fluid [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 52(1): 101-114
- [17] Tornevi A, Bergstedt O, Forsberg B. Precipitation effects on microbial pollution in a river: Lag structures and seasonal effect modification [J]. *PLOS ONE*, 2014, 9(5): e98546
- [18] Young S, Juhl A, O' Mullan G D. Antibiotic-resistant bacteria in the Hudson River Estuary linked to wet weather sewage contamination [J]. *Journal of Water and Health*, 2013, 11(2): 297-310
- [19] 张卓然, 张凤民, 夏梦岩. 微生物耐药的基础与临床(第2版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 91-177
- [20] Torkara K G, Bedenic B. Antimicrobial susceptibility and characterization of metallo- β -lactamases, extended-spectrum β -lactamases, and carbapenemases of *Bacillus cereus* isolates [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 118: 140-145
- [21] Chon J W, Kim J H, Lee S J, et al. Toxin profile, antibiotic resistance, and phenotypic and molecular characterization of *Bacillus cereus* in Sunsik [J]. *Food Microbiology*, 2012, 32(1): 217-222
- [22] Zhou Z C, Feng W Q, Han Y, et al. Prevalence and transmission of antibiotic resistance and microbiota between humans and water environments [J]. *Environment International*, 2018, 121: 1155-1161
- [23] Xu L, Ouyang W, Qian Y, et al. High-throughput profiling of antibiotic resistance genes in drinking water treatment plants and distribution systems [J]. *Environmental Pollution*, 2016, 213: 119-126
- [24] Hao H S, Shi D Y, Yang D, et al. Profiling of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in tap water [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 365: 340-345
- [25] Zhang Y, Snow D D, Parker D, et al. Intracellular and extracellular antimicrobial resistance genes in the sludge of livestock waste management structures [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(18): 10206-10213
- [26] Myung H, Caleb C E, Yina L, et al. Effectiveness of zinc oxide-assisted photocatalysis for concerned constituents in reclaimed wastewater: 1,4-dioxane, trihalomethanes, antibiotics, antibiotic resistant bacteria (ARB), and antibiotic resistance genes (ARGs) [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 1189-1197
- [27] Kim T W, Joung Y, Han J H, et al. Antibiotic resistance among aquatic bacteria in natural freshwater environments of Korea [J]. *Journal of Water and Health*, 2015, 13(4): 1085-1097
- ◆