

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190307004

姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 等. 抗生素抗性基因在生活及工业混合废水处理系统中的分布和去除[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(1): 201-208 Yao P C, Chen J Y, Zhang Y M, et al. Distribution and removal of antibiotic resistance genes in municipal and industrial mixed wastewater treatment systems [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(1): 201-208 (in Chinese)

抗生素抗性基因在生活及工业混合废水处理系统中的 分布和去除

姚鹏城^{1,2},陈嘉瑜^{1,2},张永明^{1,#},温东辉³,陈吕军^{1,2,*}

上海师范大学环境与地理科学学院,上海 200234
 清华大学环境学院,北京 100084
 北京大学环境科学与工程学院,北京 100871

收稿日期:2019-03-07 录用日期:2019-04-08

摘要: 抗生素抗性基因(ARGs)由于其广泛的传播与转移,成为日益严峻的环境问题。污水处理厂(WWTP)被公认为 ARGs 的 主要来源之一。膜生物反应器(MBR)是一种新型污染物去除工艺。在一个具有传统生物处理和膜系统处理的城镇污水处理 系统的进水中,检出 17 种 ARGs,并首次检出甲氧苄啶类 ARGs。进水中 *sul*l 基因的绝对丰度最高,随后依次是 *tet*C、*sul*ll、 *tet*W、*dfi*A1、*flo*R 和 *dfi*A13 基因。不同的处理系统去除同一种 ARGs 效果各不相同,MBR 对 ARGs 去除效果显著优于传统生 物处理工艺,同一个处理系统处理不同类 ARGs,四环素类 ARGs 被去除的效果显著优于其他 ARGs 被去除的效果,绝对丰度 下降了 3.8 个数量级。ARGs 没有真正意义上的去除,只是从水体转移到污泥中,污泥中的 ARGs 不断积累。 关键词: 抗生素抗性基因;污水处理厂;膜生物反应器;生物处理工艺 **文章编号:** 1673-5897(2020)1-201-08 **中图分类号:** X171.5 **文献标识码:** A

Distribution and Removal of Antibiotic Resistance Genes in Municipal and Industrial Mixed Wastewater Treatment Systems

Yao Pengcheng^{1,2}, Chen Jiayu^{1,2}, Zhang Yongming^{1,#}, Wen Donghui³, Chen Lvjun^{1,2,*}
1. School of Environmental and Geographical Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China
2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China
3. College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China
Received 7 March 2019 accepted 8 April 2019

Abstract: The antibiotic resistance genes (ARGs) have widely transmitted and transfered in the surroundings and gradually become a serious environmental problem. Wastewater treatment plants (WWTPs) are considered as the main sources of ARGs. Membrane bioreactor (MBR) is an efficient wastewater treatment process for this emerging contaminants. Seventeen ARGs were detected in the influents of a wastewater treatment plant, which applies traditional biological treatment process and MBR process. At the same time, trimethoprim ARGs was first tested and re-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51678003)

作者简介:姚鹏城(1993—),男,硕士研究生,研究方向为环境微生物学,E-mail: yaopc7283@163.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author), E-mail: chenlj@tsinghua.edu.cn

[#] 共同通讯作者(Co- corresponding author), E-mail: zhym@shnu.edu.cn

ported. The *sul* I was the most abundant ARGs in the influents, followed by *tet*C, *sul* II, *tet*W, *dfr*A1, *flo*R and *dfr*A13. The removal efficiencies of ARGs depends on the wastewater treatment process and the types of ARGs. MBR removes more ARGs than the traditional biological treatment process. Under the MBR process, tetracycline ARGs was removed by 3.8 log, and its removal efficiency is better than other ARGs. However, ARGs are not truly got rid of, and instead, they are transported from water to sludge.

Keywords: antibiotic resistance genes; wastewater treatment plant; membrane treatment processes; conventional biological treatment

自1929年英国细菌学家弗莱明发现青霉素 至今,抗生素在医学领域发挥着不可替代的重要 作用,然而日益严重的细菌耐药问题,成为21世 纪威胁人类健康的重要因素之一^[1]。在国际上,抗 生素和抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)已经被认为是新兴的环境污染物^[2]。据统 计,2013年中国抗生素年使用量达到16.2万t,约 占世界用量的 1/2,同年约有超过 5 万 t 抗生素被 排放进入环境^[3]。研究表明,受人类活动影响的环 境表现出更高丰度的抗生素抗性细菌(antibiotic resistance bacteria, ARB)和 ARGs^[4]。目前大量研究 表明 ARGs 广泛存在于自然水土环境中^[5],如河 流[6-8]、湖泊[9]、土壤[10]乃至海洋[11-12]。污水处理厂 (wastewater treatment plants, WWTPs)汇集了人类 生活、生产中的大量污水[13],其污水、污泥被认为 是环境中抗生素抗性基因的主要人为污染 源[14-16],并且污水中丰富的营养物质和大量的微 生物为 ARGs 的增殖和传递提供了便利条件^[17]。 由于废水处理工艺的不同, ARGs 的分布受到影 响,去除效果也各不相同[16,18-19]。以往的研究主 要集中在进水和出水上,缺乏分析处理生活及工 业混合污水的不同工艺对 ARGs 分布的影 响^[20-21],近年来污水处理不同工艺对 ARGs 分布 影响的研究不断增多^[5,19]。为了更好地评价废水 处理系统中不同工艺去除 ARGs 的效果,强化 ARGs 的去除,降低 ARGs 释放进入环境,近年来 考察废水处理系统不同工艺对 ARGs 的作用及 去除成为研究焦点^[22-23]。

本研究选择浙江某污水处理厂为研究对象,该 厂进水中生活污水占30%,工业废水占70%,主要 为化工、印染和造纸等废水。选取厂内2套不同的 处理工艺,沿各工艺流程采集污水及泥水混合物,对 其中8类共24种ARGs进行定性检测,并对其中7 种ARGs、一类整合子及16SrDNA进行定量检测, 分析ARGs在2套工艺流程中的分布特征以及对比

2 套工艺对 ARGs 的去除效果。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 样品采集及预处理

样品采集于 2018 年 4 月,该污水处理厂的 2 套 工艺流程、采样点如图 1 所示,图 1(a)为工艺一(P1) 的流程,处理水量 15 万 m³·d⁻¹,主要技术为厌氧-缺 氧-好氧处理(A²/O)和膜生物反应器(MBR);图 1(b) 为工艺二(P2)的流程,处理水量 30 万 m³·d⁻¹,主要 技术为氧化沟和二沉池。

采样点包括:进水(1-Inf 和 2-Inf)、MBR 出水(1-Eff)、二沉池出水(2-Eff)、生物处理单元不同区段的 泥水混合物(1-An、1-Ax、1-Ox 和 2-An、2-Ax、2-Ox), 以及二沉池剩余污泥(2-WS)。每个采样点采集了 1 L样品,水样存放于预先清洗干净的无菌聚乙烯塑 料瓶中,泥样存放于预先清洗干净的铝盒中,冷藏运 输,回到实验室后水样置于 4 ℃保存,泥样置于-20 ℃保存。

1.2 样品 DNA 提取

以 0.22 µm 混合纤维素酯滤膜(Millipore,德国) 过滤样品,再使用 PowerSoil DNA Isolation Kit(Mo Bio,美国)试剂盒对滤样提取 DNA。使用质量浓度 为 1% 的琼脂糖凝胶电泳(DYCP-31DN,北京六一) 和 NanoDrop 2000 超微量分光光度计(Thermo Fisher,美国)对所提 DNA 纯度和浓度进行检测。

1.3 PCR 检测

选择了 8 类共 24 种 ARGs 进行定性检测,具体 包括 5 种四环素类 ARGs(*tet*A、*tet*B、*tet*C、*tet*O 和 *tet*W),4 种磺胺类 ARGs(*sul*I、*sul*II、*sul*II和 *sul*A),3 种甲氧苄啶 ARGs(*dif*A1、*dif*A12和 *dif*A13),3 种 β-内酰胺类 ARGs(*amp*C、*bla*_{SHV}和 *bla*_{PSE}),2 种大环内 酯类 ARGs(*ermA*、*ermB*),3 种氯霉素类 ARGs(*cat*I、 *cat*II和 *flo*R),2 种氨基糖苷类 ARGs(*aac*(3)-IIa、*aac* (3)-IV)和 3种万古霉素类 ARGs(*vanA*、*vanB*和 *van*C)。实验所使用的引物均由生工生物工程(上 海)股份有限公司合成。PCR 采用 25 µL 体系,包含





Fig. 1 Two treatment processes and sampling points of the wastewater treatment plant

12.5 µL *Premix Ex Taq*[™] Hot Start Version (TaKaRa, 中国),各 1 µL 的上、下游引物,1 µL 的 DNA 模板 及 9.5 µL ddH₂O。PCR 产物置于 4 ℃保存,并使用 质量浓度为 1%~2%的琼脂糖凝胶电泳进行检测。 1.4 定量 PCR(qPCR)检测

根据 PCR 定性检测的结果,本研究对 tetC、 tetW、sull、sull、dfrA1、dfrA13 和 floR 共 7 种 ARGs、一类整合子 infl1 及 16S rDNA 进行定量测 定。采用 SYBR Green I 方法,使用实时荧光定量 PCR 仪(BioRad CFX96 Touch,美国)对各目标基因 进行定量测定。qPCR采用20 µL体系,包含10.0 µL SYBR Premix Ex Tag[™](TaKaRa,中国),引物各 0.4 μL, DNA 模板 1 μL 及 ddH, O 8.2 μL。反应程 序为:95 ℃预变性1~2 min:95 ℃变性 30 s,退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,共40 个循环^[5]。溶解曲线程序 为55~95℃,每0.5℃读数一次,期间停留30s。测 定时,将标准质粒以10倍梯度稀释,再根据质粒浓 度计算得到标准质粒的拷贝数,与通过实时荧光定 量 PCR 测定得到的 C, 值, 可绘制出标准曲线, 标准 质粒的构建方法参照张衍等^[24]的研究。各目标基因 标准曲线的线性相关系数在 0.990~0.996 之间。每 个样品均设置3个平行样。

2 结果(Results)

2.1 进水中的 ARGs

该污水处理厂2套工艺处理同一种进水,在检测的24种 ARGs中,P1、P2进水共检出17种 ARGs。如表1所示,万古霉素类、氯霉素类(catl、catII)ARGs全部未被检出,四环素类、磺胺类、甲氧苄啶类和大环内酯类 ARGs均被检出,其中,被广泛应用于治疗肺部感染、呼吸道感染、支气管炎、伤寒和疟疾等疾病的甲氧苄啶类(dfrA1、dfrA13)^[25],以及在印染废水中以高丰度存在的β-内酰胺类 ARGs(bla_{SHV}、bla_{PSE})^[26]均在2套工艺的进水中全部检出。

2.2 污水处理厂2套工艺中 ARGs 的分布特征

根据表1的结果,对全部样品中7种 ARGs及 infl1、16S rDNA 进行定量分析。进水中目标基因的 分析结果如图2所示。

该污水处理厂 P1 与 P2 进水中 ARGs 的绝对丰 度处于同一水平,说明在 P1 与 P2 进水中的 ARGs 对总 ARGs 的贡献是相同的。绝对丰度最高的为 *inf*1,P1、P2 进水中 *inf*1 的绝对丰度为 1.88×10⁶、 7.76×10⁵ copies·mL⁻¹, *inf*1 在污水中较稳定^[27],而 后绝对丰度依次递减的是 *sul*I、*tet*C、*sul*II、*tet*W、 dfrA1、floR 和 dfrA13,这些 ARGs 的绝对丰度为 8.15×10³~9.84×10⁵ copies·mL⁻¹。与其他多次出现 在文献报道中的抗性基因不同,甲氧苄啶类抗性基 因鲜有文献报道, dfrA1、dfrA13 在 2 套工艺流程中 均被检出,表明现阶段对污水处理厂 ARGs 分布状 况的评估有待改进。

2 套工艺中目标基因沿处理流程的变化情况如 图 3 所示。在样品中,16S rDNA 的绝对丰度为1.74 ×10⁴ ~3.0×10⁸ copies·mL⁻¹,在 A²/O 工艺段和氧化 沟工艺段样品中 16S rDNA 的绝对丰度均高于进水 与出水的绝对丰度,说明了微生物在生物处理单元 得到了大量增殖,且在其后得到了有效分离^[5]。

同时在该废水处理系统的剩余污泥(2-WS)中, 也检测了各 ARGs 的分布状况,如图 4 所示,剩余污 泥中各 ARGs 中磺胺类抗性基因绝对丰度最高, *sul*[*sul*][分别达到了 1.79×10⁸、9.96×10⁷ copies・ g⁻¹,然后依次为 *tet*W、*tet*C、*df*fA1、*flo*R 和 *df*fA13,绝 对丰度分别为 3.41×10⁷、7.03×10⁶、9.38×10⁵、1.59× 10⁵ 和 5.93×10⁴ copies・g⁻¹,与进水中的 ARGs 相比, 剩余污泥中的 ARGs 绝对丰度要高得多。有报道指 出,WWTPs 污泥中 ARGs 的分布在 10⁵⁶⁹ ~ 10¹¹³² copies・g⁻¹绝对丰度水平^[28]。在生物处理过程(A²/ O、氧化沟)中去除 ARGs,是由于活性污泥的吸附及 其沉淀^[29],导致 ARGs 在剩余污泥中不断的积累,致 使剩余污泥中的 ARGs 绝对丰度高于进水中 ARGs 的绝对丰度。目前中国大部分污水处理系统的剩余 污泥通过脱水填埋处理,而剩余污泥中大量 ARGs 通过渗滤液释放到泥土中,如果没有妥善处理这些 污泥的方法,势必导致抗生素耐药性基因向环境快 速迁移和扩散。有文献报道,剩余污泥对环境中 ARGs 的释放比污水贡献更大^[15]。

2.3 污水处理系统中2套工艺对 ARGs 的去除效果

如图 5 所示, P1 处理效果明显优于 P2 处理效 果,其中,在 P1 中去除效果最佳的是四环素类 tetC 和 tetW,去除效果达到 3.88 和 3.86 个数量级, 而去 除效果最差的是 dfrA1,绝对丰度仅下降 2.03 个数 量级, 与 P2 的去除效果一致。而 P1 与 P2 的区别在







于 P1 工艺有 MBR 工艺分离泥水混合物, P2 工艺是 二沉池通过重力作用分离泥水混合物,结果表明, MBR 工艺对污水中大部分 AGRs 去除效果均好于 二沉池工艺对 ARGs 的去除。从图 5 可知, P2 去除 ARGs 的效率依次为 tetW、dftA1、dftA13、floR、tetC、 sull 和 sull,研究表明,磺胺甲恶唑耐药菌难以去除^[29], 这解释了去除磺胺类抗性基因效果不佳的原因。

3 讨论(Discussion)

研究发现,该污水厂的2套工艺中,污水从沉砂 池进入厌氧池或氧化沟的厌氧区时,tetC和 tetW 基

Fig. 4 Abundance distribution of ARGs in sludge

因绝对丰度呈现下降趋势,dfrA13 和 floR 抗性基因 绝对丰度显著下降,分别下降了 1.34 和 1.12 个数量 级。磺胺类抗性基因(sufl、sul II)绝对丰度呈现不同 程度的上升趋势,而后抗性基因的绝对丰度趋于稳 定。16S rDNA 基因的绝对丰度与磺胺类抗性基因 绝对丰度的分布规律相似。在污水处理系统中,一 类整合子和磺胺类抗性基因绝对丰度高于其他类抗 性基因^[28],由于 sufl、sul II 等磺胺类 ARGs 位于可传 递单位(如 infl)上,磺胺类抗性基因具有很大的转

two processes (Logarithm of gene copy number)

表 1 废水处理厂 2 套工艺进水中抗生素抗性基因(ARGs)检出情况

Table 1Presence of antibiotic resistance bacteria (ARGs) in the influents of the two processes in
the wastewater treatment plant (WWTP)

	四环素类					甲氧苄啶类		
	Tetracycline				Trimethoprim			
样点 Sample point	tetA	tetB	tetC*	tetO	tetW*	dfrA1*	dfrA12	dfrA13*
1-Inf	+	+	+	+	+	+	+	+
2-Inf	+	+	+	+	+	+	+	+
	磺胺类				β-内酰胺类		大环内酯类	
	Sulfonamide				β-lactam		Macrolide	
样点 Sample point	sull*	sul ∏*	<i>sul</i> Ⅲ	sulA	ampC	$bla_{\rm PSE}^{-1}$	ermA	ermB
1-Inf	+	+	+	+	-	+	+	+
2-Inf	+	+	+	+	-	+	+	+
	氯霉素类			氨基糊	唐苷类		万古霉素类	
	Chloramphenicol			Aminoglycosides		Vancomycin		
样点 Sample point	cat	cat ∏	<i>flo</i> R*	<i>aac</i> (3)- II a	<i>aac</i> (3)-IV	vanA	<i>van</i> B	vanC
1-Inf	-	-	+	+	-	-	-	-
2-Inf	-	-	+	+	-	-	-	-

注:+表示检出,-表示未检出;*表示定量检测 ARGs。

Note: + means check out; - means not detected; * means quantitative detection of ARGs.

移能力^[5],而 tetW 为编码核糖体保护蛋白的四环素 类 ARGs,不利于传递、转移。

P1 工艺进水(总 ARGs 为 3.89×10^6 copies · mL⁻¹)到出水(总 ARGs 为 2.56×10^3 copies · mL⁻¹)的 总 ARGs 的绝对丰度显著下降, P2 工艺进水(总 ARGs 为 1.77×10^6 copies · mL⁻¹)到出水(总 ARGs 为 6.67×10^4 copies · mL⁻¹)的总 ARGs 的绝对丰度下降 程度比 P1 工艺小,表明 P1 工艺对 ARGs 的去除效 果比 P2 工艺好。

该污水处理厂的 P1 工艺与 P2 工艺的出水合 并,共同排入临近海域。而 P2 的出水 ARGs 绝对丰 度则比 P1 出水中的 ARGs 绝对丰度高 1.34~1.90 个数量级,结合 P1、P2 工艺的处理量,得出 P2 工艺 中ARGs的排放通量分别为 tetC(2.07×10¹⁵ copies· d^{-1}), floR(6.67×10¹³ copies · d^{-1}), dfrA13(1.31×10¹³) copies $\cdot d^{-1}$) sul II (1.94 × 10¹⁵ copies $\cdot d^{-1}$) tetW(1.37 × 10^{14} copies · d⁻¹), sull(5.18×10¹⁵ copies · d⁻¹)和 dfrA1 (5.84×10¹³ copies·d⁻¹), P2 工艺 ARGs 的排放通量对 总排水 ARGs 的排放通量的贡献分别是 tetC (98.7%), floR (97.2%), dfrA13 (96.5%), sul[[(96.1%)], tetW(95.8%)、sull(95.6%)和 dfrA1(43.5%),说明前6 种基因 P2 出水对总出水的贡献远远大于 P1 出水 对总出水的贡献。但是 dfrA1 基因在 2 套工艺中最 终出水 ARGs 的排放通量一致,说明2套工艺中 dfrA1 基因对最终出水中 dfrA1 基因排放通量的贡 献是一致的。

传统的活性污泥法去除 ARGs 以及 infl 的主 要途径是活性污泥吸附水中的 ARGs,而后通过固 液分离去除,与传统的活性污泥法相比,MBR 工艺 能更有效地降低 ARGs。传统工艺 A²/O、厌氧好氧 工艺法(A/O)和氧化沟的去除效果均没有 MBR 工艺 好^[30]。在本研究中,只考虑细胞内 ARGs 的基础上, MBR 工艺能捕获水中所有直径 0.22 µm 以上的悬 浮颗粒,去除水中的 ARGs,但 MBR 出水中依然可 以检测到所有种类的 ARGs,这可能是由于固液分 离不完全造成的,比如膜组件中纤维的断裂等[31-32]。 本研究中,P1为A²/O工艺和MBR工艺,P2为氧化 沟工艺,2套工艺对 ARGs 的去除效果与文献结果 一致。绝对丰度高的 ARGs(sull、tetC、sul II 和 tetW) 在MBR 工艺中与 16S rRNA 呈现显著相关(P< 0.01),高丰度的 ARGs 与微生物量密切相关,说明固 液分离是去除 ARGs 的主要途径之一。不同工艺最 终致使固液分离的程度不同,MBR 工艺的固液分离

效果远优于二沉池的重力沉降,所以 MBR 工艺对 ARGs 的去除效果优于氧化沟。但是 dftA1 基因的 去除效果在不同固液分离程度的工艺中并没有呈现 明显的差别,有待深入研究。

污水处理厂的最终出水排入临近海域,可能引起 ARGs 的传播,影响海域内的生态^[5]。此外,无论是 MBR 工艺还是氧化沟工艺,ARGs 通过活性污泥吸附,固液分离而被去除,但却在污泥中富集。为彻底将 ARGs 去除,需在污水处理和污泥处置两方面探索新技术和工艺,控制 ARGs 的产生和传播风险。

通讯作者简介:陈吕军(1965—),男,教授,主要研究方向为水 处理理论与技术、产业生态学。

共同通讯作者简介:张永明(1960—),男,教授,主要研究方向 为水处理理论与技术。

参考文献(References):

- [1] 杨永青, 许继飞, 董泰音, 等. 水体和土壤环境中抗生素抗性基因(ARGs)的污染特征和消除[J]. 北方农业学报, 2018: 46(3): 76-82
 Yang Y Q, Xu J F, Dong T Y, et al. Pollution property and reduction of antibiotic resistance genes (ARGs) in aquatic and soil environment [J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2018, 46(3): 76-82 (in Chinese)
- [2] Pruden A, Pei R T, Storteboom H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: Studies in northern Colorado [J]. Environmental Science & Technology, 2006, 40(23): 7445-7450
- [3] 应光国.中国抗生素使用与流域污染[C].大连:中国化
 学会第30届学术年会摘要集-第二十六分会:环境化
 学,2016
- [4] Allen H K, Donato J, Wang H H, et al. Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environments [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(4): 251-259
- [5] 李奥林,陈吕军,张衍,等.抗生素抗性基因在两级废水处理系统中的分布和去除[J].环境科学,2018,39
 (10):4593-4600

Li A L, Chen L J, Zhang Y, et al. Distribution and removal of antibiotic resistance genes in two sequential wastewater treatment plant [J]. Environmental Science, 2018, 39(10): 4593-4600 (in Chinese)

[6] Brown P C, Borowska E, Schwartz T, et al. Impact of the particulate matter from wastewater discharge on the abundance of antibiotic resistance genes and facultative pathogenic bacteria in downstream river sediments [J]. Science of the Total Environment, 2019, 649: 1171-1178

- [7] Xu J, Xu Y, Wang H M, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river [J]. Chemosphere, 2015, 119: 1379-1385
- [8] Luo Y, Mao D Q, Rysz M, et al. Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44 (19): 7220-7225
- [9] Bondarczuk K, Piotrowska-Seget Z. Microbial diversity and antibiotic resistance in a final effluent-receiving lake
 [J]. Science of the Total Environment, 2019, 650: 2951-2961
- [10] 张宁, 李森, 刘翔. 土壤中抗生素抗性基因的分布及迁移转化[J]. 中国环境科学, 2018, 38(7): 2609-2617
 Zhang N, Li M, Liu X. Distribution and transformation of antibiotic resistance genes in soil [J]. China Environmental Science, 2018, 38(7): 2609-2617 (in Chinese)
- [11] Li Q W, Na G S, Zhang L X, et al. Effects of corresponding and non-corresponding contaminants on the fate of sulfonamide and quinolone resistance genes in the Laizhou Bay, China [J]. Marine Pollution Bulletin, 2018, 128: 475-482
- [12] Zhang Y P, Niu Z G. Occurrence of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in coastal areas of Bohai Bay (China) and the factors affecting them [J]. Environmental Pollution, 2018, 236: 126-136
- [13] Czekalski N, Diez E G, Burgmann H. Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake [J]. ISME Journal, 2014, 8(7): 1381-1390
- [14] Czekalski N, Berthold T, Caucci S, et al. Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into Lake Geneva, Switzerland [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 106
- [15] Munir M, Wong K, Xagoraraki I. Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan [J]. Water Research, 2011, 45(2): 681-693
- [16] 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 [J]. Science of the Total Environment, 2013, 447: 345-360
- [17] 王荣昌, 王超颖, 曾旭. 污水处理过程中抗生素抗性基因的检测及其水平转移机制的研究进展[J]. 环境化学,

2017, 36(12): 2567-2573

Wang R C, Wang C Y, Zeng X. Detection and horizontal transfer of antibiotic resistance genes during wastewater treatment process [J]. Environmental Chemistry, 2017, 36 (12): 2567-2573 (in Chinese)

- [18] Batt A L, Kim S, Aga D S. Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations [J]. Chemosphere, 2007, 68(3): 428-435
- [19] Barancheshme F, Munir M. Strategies to combat antibiotic resistance in the wastewater treatment plants [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 8: 2603
- [20] Laht M, Karkman A, Voolaid V, et al. Abundances of tetracycline, sulphonamide and beta-lactam antibiotic resistance genes in conventional wastewater treatment plants (WWTPs) with different waste load [J]. PLoS One, 2014, 9(8): 8
- [21] Narciso-da-Rocha C V. *bla*_{TEM} and *vanA* as indicator genes of antibiotic resistance contamination in a hospitalurban wastewater treatment plant system [J]. Journal of Global Antimicrobial Resistance, 2014, 2(4): 309-315
- [22] Di Cesare A, Eckert E M, D' Urso S, et al. Co-occurrence of integrase 1, antibiotic and heavy metal resistance genes in municipal wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2016, 94: 208-214
- [23] Lee J, Jeon J H, Shin J, et al. Quantitative and qualitative changes in antibiotic resistance genes after passing through treatment processes in municipal wastewater treatment plants [J]. Science of the Total Environment, 2017, 605: 906-914
- [24] 张衍,陈吕军,谢辉,等.两座污水处理系统中细胞态 和游离态抗生素抗性基因的丰度特征[J].环境科学, 2017, 38(9): 3823-3830 Zhang Y, Chen L J, Xie H, et al. Abundance of cell-associated and cell-free antibiotic resistance genes in two wastewater treatment systems [J]. Environmental Science,
- [25] 王慧娴. 不同方式活化过硫酸钠降解水中甲氧苄啶的研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2018: 12
 Wang H X. Degradation mechanism of trimethoprim by different ways of activated sodium persulfate [D]. Guang-zhou: Guangdong University of Technology, 2018: 12 (in Chinese)

2017, 38(9): 3823-3830 (in Chinese)

 [26] 焦雅楠. 印染废水与生活污水中抗生素抗性基因分布 差异及机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017: 32
 Jiao Y N. The distribution characteristic and mechanism of antibiotic resistome between dyeing and domestic wastewater [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017: 32 (in Chinese)

- [27] McConnell M M, Hansen L T, Jamieson R C, et al. Removal of antibiotic resistance genes in two tertiary level municipal wastewater treatment plants [J]. Science of the Total Environment, 2018, 643: 292-300
- [28] Wen Q X, Yang L, Duan R, et al. Monitoring and evaluation of antibiotic resistance genes in four municipal wastewater treatment plants in Harbin, Northeast China [J]. Environmental Pollution, 2016, 212: 34-40
- [29] Gao P, Munir M, Xagoraraki I. Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal

wastewater treatment plant [J]. Science of the Total Environment, 2012, 421: 173-183

- [30] Zheng W L, Wen X H, Zhang B, et al. Selective effect and elimination of antibiotics in membrane bioreactor of urban wastewater treatment plant [J]. Science of the Total Environment, 2019, 646: 1293-1303
- [31] Li B, Qiu Y, Li J, et al. Removal of antibiotic resistance genes in four full-scale membrane bioreactors [J]. Science of the Total Environment, 2019, 653: 112-119
- [32] Zhang Y, Li A, Dai T, et al. Cell-free DNA: A neglected source for antibiotic resistance genes spreading from WWTPs [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(1): 248-257