

研究报告

医院污水源生物气溶胶中耐药菌及耐药基因的季节变化特征

刘扬, 王彦杰*, 杨利莹, 朱昊然, 赖笔生, 刘亦凡, 李金龙

郑州大学 公共卫生学院, 河南 郑州 450001

刘扬, 王彦杰, 杨利莹, 朱昊然, 赖笔生, 刘亦凡, 李金龙. 医院污水源生物气溶胶中耐药菌及耐药基因的季节变化特征[J]. 微生物学通报, 2025, 52(1): 137-151.

LIU Yang, WANG Yanjie, YANG Liying, ZHU Haoran, LAI Bisheng, LIU Yifan, LI Jinlong. Seasonal changes of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in bioaerosols sourced from hospital sewage[J]. Microbiology China, 2025, 52(1): 137-151.

摘要:【背景】医院污水中残留着高丰度的致病菌和耐药基因等, 它们可随着污水处理过程逸散到空气中, 导致传染性疾病的感染和流行。【目的】探究医院污水及其逸散的生物气溶胶中耐药菌及耐药基因的赋存情况及季节变化特征。【方法】使用安德森八级采样器采集生物气溶胶样本, 通过药敏试验和 PCR 检测了大肠杆菌(*Escherichia coli*)的耐药特性, 利用高通量定量 PCR 检测了污水及空气中耐药基因的丰度和种群结构。【结果】生物气溶胶浓度在夏季最高, 生物池空气中细菌浓度 $[(250\pm 170) \text{ CFU/m}^3]$ 和小粒径($<2.1 \mu\text{m}$)细菌气溶胶占比均高于其他采样点。在生物池环境样本中共分离鉴定出 7 株大肠杆菌, 这些菌株对头孢西丁和亚胺培南的耐药率最高(85.71%), 而且 *parC*、*bla_{TEM}* 和 *dhps* 的检出率为 100%。生物池空气中耐药基因含量在冬季最高(26.18 copies/ m^3), 不同季节耐药基因含量的均值为 14.82 copies/ m^3 。*int11* 在春季和秋季空气中的丰度最高, *tmpA-05* 和 *strB* 分别在夏季和冬季空气中含量最高。溯源结果表明, 生物池污水是空气中耐药基因的重要来源。根据多重抗生素耐药性指数和暴露剂量计算结果显示生物池污水被抗生素污染严重, 春冬季生物池空气中耐药基因的暴露剂量相对较高。【结论】医院污水处理站作为潜在的高危抗生素暴露源, 应加强管理和防控。

关键词: 医院污水; 生物气溶胶; 药敏试验; 耐药基因

资助项目: 国家自然科学基金(52200134); 河南省科技攻关项目(242102321074)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (52200134) and the Key Scientific and Technological Project of Henan Province (242102321074).

*Corresponding author. E-mail: wangyanjie_2008@126.com

Received: 2024-04-09; Accepted: 2024-06-06; Published online: 2024-06-25

Seasonal changes of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in bioaerosols sourced from hospital sewage

LIU Yang, WANG Yanjie*, YANG Liying, ZHU Haoran, LAI Bisheng, LIU Yifan, LI Jinlong

College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan, China

Abstract: **[Background]** Hospital sewage contains abundant pathogenic bacteria and antibiotic resistance genes (ARGs), which can escape into the air along with the sewage treatment process and lead to infections and emergence of infectious diseases. **[Objective]** To investigate the presence and seasonal changes of antibiotic resistant bacteria and ARGs in hospital sewage and the bioaerosols. **[Methods]** Bioaerosol samples were collected by an Anderson eight-stage sampler, and the antimicrobial susceptibility test and PCR were employed to assess the resistance profile of *Escherichia coli*. The abundance and structure of ARGs in the sewage and air were examined by high-throughput quantitative PCR. **[Results]** The bioaerosol concentration was the highest in summer. The air of the biochemical tank had higher bacterial concentration ((250±170) CFU/m³) and higher percentage of small-size (<2.1 μm) bacterial aerosols than that at other sampling sites. A total of seven strains of *E. coli* were isolated and identified in the samples from the biochemical tank. These strains showed the highest resistance (85.71%) to cefoxitin and imipenem, and the detection rates of *parC*, *bla*_{TEM}, and *dhps* were 100%. The abundance of ARGs in the air of the biochemical tank was the highest (26.18 copies/m³) in winter, and the mean ARGs abundance in different seasons was 14.82 copies/m³. *intI1* had higher abundance in the air in spring and autumn, and *tnpA-05* and *strB* in the air had the highest abundance in summer and winter, respectively. The source tracking results showed that biochemical tank effluent was the main source of ARGs. According to the multiple antibiotic resistance index and exposure dose, the sewage of the biochemical tank was seriously polluted by antibiotics, and the exposure dose of ARGs in the air of the biochemical tank was high in spring and winter. **[Conclusion]** The hospital sewage treatment stations, as the potential sources with a high risk of antibiotic exposure, should be well managed for the prevention and control of infections.

Keywords: hospital sewage; bioaerosols; antimicrobial susceptibility test; antibiotic resistance genes

抗生素抗性基因(antibiotic resistance gene, ARG)作为一种新型环境污染物^[1],可在环境中长时间存留,并可能导致人类抗生素治疗失效、疾病治疗周期延长及死亡率增加等。污水处理厂作为生活废水的主要汇集地,是耐药菌和 ARG 在环境中传播的主要来源^[2]。

抗生素的滥用被认为是微生物产生抗性的

首要原因,污水污泥中微生物物种丰富且抗生素污染严重,耐药菌和 ARG 可随着机械运作和曝气充氧逸散到空气中形成生物气溶胶^[3]。先前研究已在污水厂空气中检测到 *bla*_{TEM}、*tetW*、*ermB* 和 *dnrS* 等多种 ARG^[4]。Wang 等^[5]在污水厂空气中检测到 16 种 ARG 亚型,其中四环素类 ARG 和β内酰胺类 ARG 浓度最高。医

疗废水残留着大量抗生素、致病菌和病毒等^[6],可能含有比市政污水更高丰度的耐药菌及 ARG。随着新型冠状病毒感染的流行,抗生素使用量也随之升高,导致医院污水中 ARG 的浓度和种类也更加丰富。高丰度的耐药菌和 ARG 可随着医院污水处理过程逸散到空气中,导致传染性疾病的感染和流行^[7]。然而,现有研究多关注于市政污水源 ARG 的逸散规律,缺乏对医院污水源 ARG 的调查。因此,有必要识别和监测医院污水源耐药菌和 ARG 的赋存特征,关注其潜在的健康风险。

大肠杆菌(*Escherichia coli*)作为耐药基因“储存库”,在多种环境中较为常见,其携带的 ARG 可通过水平转移到其他细菌中,对公共卫生安全造成了严重威胁^[8]。大肠杆菌同样被认为是抗生素抗性传播的主要参与者^[9],可作为检测抗生素耐药性的指示菌^[8]。因此,为探究医院污水处理环境中耐药菌及 ARG 的赋存情况,本研究以医院污水处理站为研究对象,在调查生物池生物气溶胶季节变化特征的基础上,检测样本中大肠杆菌分离株的耐药特性,进一步定量分析样本中 ARG 的丰度及分布特征,以期控制医院污水源生物气溶胶的排放及制定疾病预警防控体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品

本研究于 2021 年春季(4 月 4 日)、夏季(7 月 5 日)、秋季(11 月 7 日)和冬季(12 月 12 日)对河南省某传染病医院污水处理站的生物气溶胶及污水样本进行了采集。该污水处理站为生物接触氧化工艺,处理污水规模为 3 000 m³/d。生物气溶胶样本的采样点位于生物池、北门(上风向 100 m)和南门(下风向 100 m),通过安德森八级空气微生物采样器以 28.3 L/min 的流速

在人体呼吸高度(距离地面 1.5 m)进行采样,采样时间 3 min。收集载体为营养琼脂培养基,采样后在 37 °C 培养 48 h 后计数。每个采样点重复采样 3 次。采样期间,使用温湿度计测定温度和相对湿度,结果如表 1 所示。大肠杆菌 ATCC 25922 来自美国菌种保藏中心。

1.2 培养基和主要试剂、仪器

营养琼脂培养基、麦康凯培养基、MHA 培养基、MHB 培养基和三糖铁培养基,青岛海博生物技术有限公司。药敏纸片,常德比克曼生物有限公司。细菌 DNA 提取试剂盒,生工生物工程(上海)股份有限公司;FastDNA[®]土壤 DNA 提取试剂盒,MP Biomedicals 公司。安德森八级空气微生物采样器,常州市成丰流量仪表有限公司;可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;数字式温湿度计,希玛仪器仪表有

表 1 采样期间的气象条件

Table 1 Meteorological condition during sampling period

季节 Season	采样点 Sampling point	温度 Temperature (°C)	相对湿度 Relative humidity (%)
春季 Spring	北门 North gate	25.5	22.0
	生物池 Biochemical tank	20.0	27.6
	南门 South gate	23.6	24.0
夏季 Summer	北门 North gate	31.0	55.8
	生物池 Biochemical tank	33.1	53.3
	南门 South gate	39.8	46.8
秋季 Autumn	北门 North gate	14.8	67.0
	生物池 Biochemical tank	16.2	54.3
	南门 South gate	24.7	30.3
冬季 Winter	北门 North gate	8.8	27.1
	生物池 Biochemical tank	8.5	71.0
	南门 South gate	14.7	27.3

限公司; WaferGen SmartChip Real-Time PCR 系统和纳升级多样品点样仪, WaferGen Biosystems 公司。

1.3 微生物浓度计算

安德森八级空气微生物采样器可将生物气溶胶按粒径大小分为8个阶段,分别为5.8–9.0、4.7–5.8、3.3–4.7、2.1–3.3、1.1–2.1、0.65–1.10、0.43–0.65和<0.43 μm。对1–8级平板上的菌落计数,通过正压漏孔校正法对菌落数量校正,利用公式(1)计算空气中细菌浓度。

$$C = \frac{N \times 1000}{t \times F} \quad (1)$$

式(1)中: C 为生物气溶胶中细菌浓度, CFU/m³; N 为各级平板上菌落数之和, CFU; t 为采样时间, 3 min; F 为采样流速, 28.3 L/min。

1.4 大肠杆菌的分离和鉴定

使用无菌水将计数后的菌落冲下制备为菌液。将生物池污水及生物气溶胶菌液划线接种在麦康凯培养基上,经培养后挑选疑似大肠杆菌的单个菌落(外观呈粉红色或红色、表面光滑)接种至 LB 肉汤培养基中。将含有菌液的 LB 肉汤接种到三糖铁培养基中,若培养基呈黄色且细菌产气,则疑似为大肠杆菌。保存疑似大肠杆菌菌株并用细菌 DNA 提取试剂盒提取菌株基因组 DNA。采用 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')和 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3')进行扩增。PCR 反应体系(25 μL): 2×*Taq* PCR Master Mix 12.5 μL, 上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, ddH₂O 8.5 μL, DNA 模板 2 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 45 s, 55 °C 45 s, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 7 min。取 PCR 扩增产物在 1%琼脂糖凝胶中电泳,阳性产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司测序。在 NCBI 数据库中将测序结果通过 BLAST 进行比对,鉴定是否为大肠杆菌。

1.5 大肠杆菌药敏试验

将 OD_{600} 为 0.1 的大肠杆菌菌液以 1:1 000 的比例与 MHB 培养基混合,取 200 μL 混合液接种在 MHA 培养基上。共选取了 5 类 11 种抗生素的药敏纸片,将药敏纸片贴于 MHA 培养基上,经 37 °C 培养 24 h 后测量各抑菌环直径。以大肠杆菌 ATCC 25922 为质控菌,结果参照美国临床实验室标准化协会制定的药敏试验执行标准判定^[10]。结果分为敏感(susceptible, S)、中介(intermediate, I)和耐药(resistant, R)。

1.6 分离株中耐药基因的定性检测

采用 PCR 方法对大肠杆菌分离株中六大类 27 种常见的 ARG 和 3 种可移动遗传元件(mobile genetic element, MGE)进行检测,引物序列如表 2 所示。以 1.4 提取的细菌 DNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(25 μL): 2×*Taq* PCR Plus Master Mix 12.5 μL, 正、反向引物(10 μmol/L)各 1 μL, ddH₂O 8.5 μL 和 DNA 模板 2 μL。PCR 反应条件: 94 °C 5 min; 94 °C 45 s, 退火 45 s, 退火温度如表 2 所示, 72 °C 90 s, 30 个循环; 72 °C 7 min。取扩增产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳,观察是否有目标条带。

1.7 耐药基因的定量检测

采用高通量荧光定量 PCR (high-throughput quantitative PCR, HT-qPCR)方法对上风向空气、生物池空气及生物池污水中 ARG/MGE 的含量进行检测,共检测了六大类 17 种 ARG (四环素类: *tetG-01*、*tetG-02* 和 *tetL-02*; β-内酰胺类: *bla_{PAO}*; 大环内酯类: *ermB*、*ermC*、*ermF* 和 *ermX*; 氨基糖苷类: *aadA-01*、*aadA-02*、*aadA1*、*aadA2-03* 和 *strB*; 磺胺类: *dhps*、*sul1* 和 *sul2*; 喹诺酮类: *parC*)和 3 种 MGE (*tnpA-04*、*tnpA-05* 和 *intI1*)。使用 FastDNA[®]土壤 DNA 提取试剂盒提取样本中 DNA,利用 WaferGen SmartChip Real-Time PCR 系统对 ARG/MGE 进行 HT-qPCR 检测。

表 2 ARG/MGE 引物序列及扩增条件

Table 2 Primer sequences and amplification condition of ARG/MGE

抗生素种类	耐药基因	引物序列	退火温度
Type of antibiotic	Antibiotic resistance gene	Primer sequence (5'→3')	Annealing temperature (°C)
四环素类 Tetracyclines	<i>tetA</i>	F: GCCTCCTGCGCGATCTGG	53
		R: CGAAGCAAGCAGGACCATG	
	<i>tetB</i>	F: TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG	42
		R: GTAATGGGCCAATAACACCG	
	<i>tetO</i>	F: AACTTAGGCATTCTGGCTCAC	52
		R: TCCACTGTTCCATATCGTCA	
	<i>tetM</i>	F: GTGTGACGAACCTTACCGAA	50
R: GCTTTGTATCTCCAAGAACAC			
<i>tetW</i>	F: GAGAGCCTGCTATATGCCAGC	52	
	R: GGGCGTATCCACAATGTTAAC		
<i>tetQ</i>	F: TTATACTTCTCCGGCATCG	52	
	R: ATCGGTTGAGAATGTCCAC		
磺胺类 Sulfonamides	<i>dhps</i>	F: ATGAAACTTTTTGCCAGGG	49
		R: TTAATCATAGCGTTGTTTTCC	
	<i>sul2</i>	F: CATCATTTTCGGCATCGTC	49
	R: TCTTGC GGTTTCTTTCAGC		
大环内酯类 Macrolides	<i>mefA</i>	F: GTGACGGTGTTCGGCATTCT	54
		R: TCCGAGAAGGTGATTGCGCT	
	<i>ermB</i>	F: AGTATCATTAATCACTAGTGC	42
R: TTCTTCTGGTACTAAAAGT			
<i>ermA</i>	F: GAAAAGGATCTCAACCAAATA	46	
	R: AGTAACGGTACTTAAATTGTTT		
<i>ermA</i>	F: TCTAAAAAGCATGTAAAAGAA	52	
	R: CTTCGATAGTTTATTAATATTAGT		
喹诺酮类 Quinolones	<i>qnrA</i>	F: TCAGCAAGAGGATTTCTCA	47
		R: GGCAGCACTATTACTCCCA	
	<i>qnrB</i>	F: CCTGAGCGGCACTGAATTTAT	52
		R: GTTTGCTGCTCGCCAGTCGA	
	<i>qnrS</i>	F: ACATAAAGACTTAAAGTGATC	44
		R: CAATTAGTCAGGATAAAC	
	<i>gyrA</i>	F: ATGCGCGGAGTTGTTGAGGTAGAA	57
R: CAGGCCGCGCAGAATGTGG			
<i>parC</i>	F: GGGGGCGACCGTAGAGCATA	52	
	R: CAGGGCGCAGTTTGATTTG		
<i>aac(3)-IIa</i>	F: TTTAGCGGCGCACCCAACAGC	57	
	R: GCATACGCGGAAGGCAATAACG		
<i>aac(6')-Ib-cr</i>	F: CAGCTCTAGAATTTTAAAGCGTGCAT	55	
	R: ATATGCGAATTCTTAGGCATCACTGC		
β-内酰胺类 Beta-lactamines	<i>bla_{OXA}</i>	F: ATTAAGCCCTTTACCAAACCA	48
		R: AAGGGTTGGGCGATTTTGCCA	
	<i>bla_{SHV}</i>	F: TGTATTATCTCCCTGTTAGC	48
		R: TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
<i>bla_{TEM}</i>	F: GAGTATTCAACATTTTCGT	42	
	R: ACCAATGCTTAATCAGTGA		
<i>bla_{CTX-M}</i>	F: TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	53	
	R: CGATATCGTTGGTGGTGCCATA		

(待续)

(续表 2)

抗生素种类	耐药基因	引物序列	退火温度
Type of antibiotic	Antibiotic resistance gene	Primer sequence (5'→3')	Annealing temperature (°C)
氨基糖苷类 Aminoglycosides	<i>aadA1</i>	F: TATCAGAGGTAGTTGGCGTCAT R: GCGAGTTCCATAGCGTTAAGG	55
	<i>aph(3)-Ia</i>	F: ATGGGCTCGCGATAATGTC R: CTCACCGAGGCAGTTCCAT	51
	<i>aac(6')-Ib</i>	F: ATGACCTTGCATGCTCTATGA R: GTACACGGCTGGACCATCTG	56
	<i>aph(3)-IIa</i>	F: GGGCGCCCCGGTTCTTTTTG R: ACACCCAGCCGGCCACAGTCG	55
MGE	<i>int11</i>	F: ACATGTGATGGCGACGCACGA R: ATTTCTGTCCTGGCTGGCGA	54
	<i>int12</i>	F: CACGGATATGCGACAAAAAGGT R: GTAGCAAACGAGTGACGAAATG	53
	<i>int13</i>	F: AGTGGGTGGCGAATGAGTG R: TGTTCTGTATCGGCAGGTG	52

共选取 21 组引物, 包括 17 组针对 ARG 的引物、3 组针对 MGE 的引物和 1 组针对 16S rRNA 基因的引物, 引物序列如表 3 所示, 每组引物均扩增一式三份, 并包含一个非模板对照。使用纳升级多样品点样仪将 PCR 反应混合液加入微孔芯片中, 随后进行 qPCR 反应。HT-qPCR 反应体系(100 nL): 2×LightCycler 480 SYBR Green I Master Mix 50 nL, DNA 模板(2 ng/μL) 20 nL, 牛血清白蛋白(0.1 mg/mL) 1 nL, 正、反向引物(500 nmol/L)各 5 nL, 无核酸酶双蒸水 19 nL。HT-qPCR 反应条件: 95 °C 10 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 循环 40 次, 最后由程序自动生成溶解曲线。使用 SmartChip qPCR 软件(2.7.0.1 版)分析 qPCR 结果。相对拷贝数根据 Ouyang 等^[11]所述公式计算, ARG 的相对丰度按每个 ARG 的拷贝数与样品相应的 16S rRNA 基因拷贝数之比计算。

1.8 ARG/MGE 来源及相关性分析

将污水和上风向环境空气视为生物池生物气溶胶中 ARG/MGE 的潜在来源。采用 R 软件 4.3.2 中 SourceTracker 软件包^[12]对医院生物池

空气中 ARG/MGE 的来源进行分析, 探究上风向、医院污水及其他潜在来源对生物池空气中 ARG/MGE 的贡献比例。采用 Spearman 相关性分析探讨 ARG/MGE 之间的相关性, 利用 R 软件 4.3.2 绘制丰度及相关性热图。

1.9 耐药风险

1.9.1 多重抗生素耐药性指数

多重抗生素耐药性 (multiple antibiotic resistance, MAR) 指数可用于评估细菌分离株对多种抗生素的耐药水平, 以确定其是否为高风险的抗生素污染环境^[13], 其计算公式为:

$$MAR = \frac{A}{n \times B} \quad (2)$$

式(2)中: A 为采样点各菌株对抗生素的耐药数量之和, n 为采样点分离出的大肠杆菌菌株数量, B 为检测抗生素的数量。当 MAR 指数 ≤ 0.2 时, 这表明采样点被抗生素污染的潜在风险较低; 当 MAR 指数 > 0.2 时, 则被认为采样点是潜在的高危抗生素暴露源^[14]。

1.9.2 呼吸暴露剂量

气载 ARG 主要通过呼吸进入人体, 根据美国环保署提供的暴露剂量模型^[15]计算生物池

表3 扩增所用引物序列

Table 3 Primer sequences used for amplification

目的基因	引物序列
Target gene	Primer sequence (5'→3')
16S rRNA	F: GGGTTGCGCTCGTTGC R: ATGGYTGTCTGTCAGCTCGTG
<i>aadA-01</i>	F: GTTGTGCACGACGACATCATT R: GGCTCGAAGATACCTGCAAGAA
<i>aadA-02</i>	F: CGAGATTCTCCGCGCTGTA R: GCTGCCATTCTCCAAATTGC
<i>aadA1</i>	F: AGCTAAGCGGAACTGCAAT R: TGGCTCGAAGATACCTGCAA
<i>aadA2-03</i>	F: CAATGACATTCTTGCGGGTATC R: GACCTACCAAGGCAACGCTATG
<i>strB</i>	F: GCTCGGTCTGAGAACAATCT R: CAATTTCCGGTCGCCTGGTAGT
<i>tetG-01</i>	F: TCAACCATTGCCGATTCTGA R: TGGCCCGCAATCATG
<i>tetG-02</i>	F: CATCAGCGCCGGTCTTATG R: CCCCATGTAGCCGAACCA
<i>tetL-02</i>	F: ATGGTTGTAGTTGCGCGCTATAT R: ATCGCTGGACCGACTCCTT
<i>bla_{PAO}</i>	F: CGCCGTACAACCGGTGAT R: GAAGTAATGCGGTTCTCCTTTCA
<i>sul1</i>	F: CAGCGCTATGCGCTCAAG R: ATCCCCTGCGCTGAGT
<i>sul2</i>	F: TCATCTGCCAAACTCGTCGTTA R: GTCAAAGAACGCCGCAATGT
<i>dhps</i>	F: ATGAAACTTTTTGCCAGGG R: TTACTCATAGCGTTTGTTTTCC
<i>ermB</i>	F: TAAAGGGCATTTAACGACGAAACT R: TTTATACCTCTGTTTGTAGGGAATTGAA
<i>ermC</i>	F: TTTGAAATCGGCTCAGGAAAA R: ATGGTCTATTCAATGGCAGTTACG
<i>ermF</i>	F: CAGCTTTGGTTGAACATTACGAA R: AAATTCCTAAAATCACAACCGACAA
<i>ermX</i>	F: GCTCAGTGGTCCCCATGGT R: ATCCCCCGTCAACGTTT
<i>parC</i>	F: GGGGGCGACCGTAGAGCATA R: CAGGGCGCAGTTTGATTTTG
<i>tnpA-04</i>	F: CCGATCACGAAAGCTCAAG R: GGCTCGCATGACTTCGAATC
<i>tnpA-05</i>	F: GCCGCACTGTGCATTTTATC R: GCGGGATCTGCCACTTCTT
<i>int11</i>	F: ACATGTGATGGCGACGCACGA R: ATTTCTGTCTGGCTGGCGA

附近人群呼吸途径 ARG 的日暴露剂量, 计算公式如下:

$$ADD = \frac{c \times IR \times EF \times ET}{BW \times AT} \quad (3)$$

式(3)中: 日平均暴露量(average daily exposure dose, ADD)为呼吸途径的暴露剂量, copies/(d·kg); c 为空气中 ARG/MGE 浓度, copies/m³; IR 为成人呼吸速率, 15.7 m³/d^[16]; EF 为人群的暴露频率, 250 d/年^[17]; ET 为暴露年限, 25 年^[17]; BW 为成人体重, 60.6 kg^[16]; AT 为平均寿命, 74.8×365 d^[16]。

2 结果与分析

2.1 生物气溶胶浓度及粒径分布特征

如图1所示, 医院污水处理站中生物池空气中细菌浓度均值最高, 为(250±170) CFU/m³; 南门空气[(113±68) CFU/m³]位于下风向, 其细菌浓度均值略高于北门(75±35) CFU/m³。生物池空气中细菌在夏季浓度最高[(506±51) CFU/m³], 其次为春季[(283±28) CFU/m³], 冬季含量最低[(42±4) CFU/m³]。南北门生物气溶胶中细菌浓

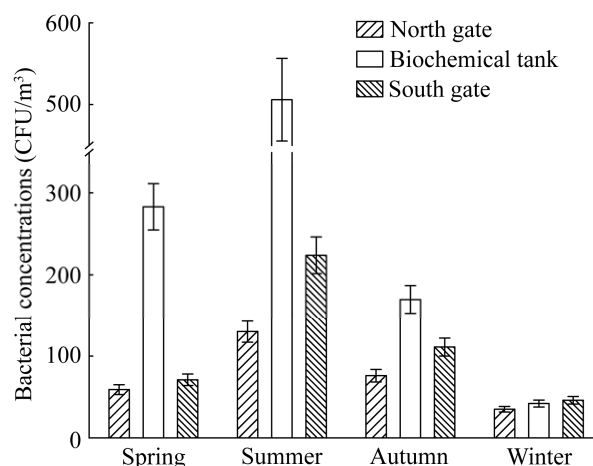


图1 不同季节各采样点生物气溶胶中细菌浓度
Figure 1 Bacterial concentrations in bioaerosols at each sampling point in different seasons.

度的季节变化特征与生物池相似，都是在夏季含量最高，冬季含量最低。

生物气溶胶的粒径分布是决定其在空气中停留时间及其被吸入概率的主要因素。如图 2 所示，生物池空气中细菌气溶胶粒径占比最大的是 $<0.43 \mu\text{m}$ ，占比为 20.15%，而南、北门细菌气溶胶的粒径占比最大的分别是 $2.1\text{--}3.3 \mu\text{m}$ (31.30%) 和 $5.8\text{--}9.0 \mu\text{m}$ (32.50%)。直径 $<2.1 \mu\text{m}$ 的颗粒物可进入肺泡和支气管^[18]，本研究将直径 $<2.1 \mu\text{m}$ 的颗粒物规定为小粒径。小粒径细菌气溶胶的分布情况为生物池(47.06%)>北门(30.38%)>南门(29.62%)。细菌气溶胶的粒径分布随季节变化，生物池空气中小粒径细菌气溶胶占比在冬季最高(67.31%)，其次为夏季(55.87%)，均高于同季节南北门处小粒径细菌气溶胶占比；而三处采样点空气中小粒径细菌气溶胶占比在春秋两季较为接近。

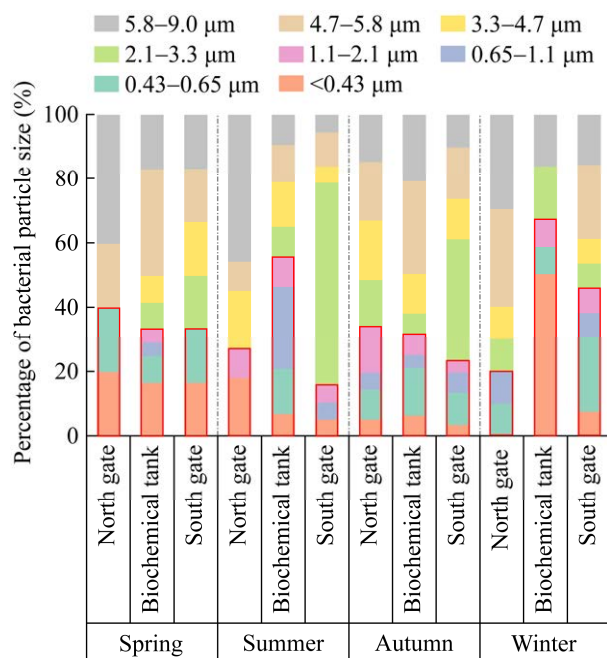


图 2 各采样点细菌气溶胶的粒径分布特征
Figure 2 Particle size distribution characteristics of bacterial aerosols at each sampling point.

2.2 大肠杆菌的抗生素耐药谱

2.2.1 耐药特性

共分离鉴定出 7 株大肠杆菌，其中生物池污水中共分离出 4 株，而生物池生物气溶胶中共分离出 3 株，冬季空气中未分离出大肠杆菌，药敏试验结果见表 4。生物气溶胶分离株中共检出对 3 类 5 种抗生素的抗药性，耐药检出率为 21.21%，污水分离株中共检出对 2 类 4 种药物的抗药性，耐药检出率为 31.82%，其中复方新诺明在污水分离株中并未检出。分离出的 7 株大肠杆菌对 β -内酰胺类的头孢西丁和亚胺培南的耐药率(85.71%)最高，其次是四环素类的四环素(71.43%)和多西环素(42.86%)，所有分离株对喹诺酮类、氨基糖苷类，以及 β -内酰胺类的头孢他啶和氨曲南等 6 种药敏纸片的耐药率为 0。生物气溶胶分离株在秋季耐抗生素种类最多(4 种)，其他季节依次为春季(2 种)>夏季(1 种)；春、夏季污水分离株的耐抗生素种类均为 4 种，而秋、冬季污水分离株均耐 3 种抗生素(表 4)。

2.2.2 分离菌株中耐药基因种类

如图 3 所示，不同分离株中喹诺酮类 ARG 的检出率最高(61.22%)，其次是 β -内酰胺类 ARG (50%)，检出率最低的是大环内酯类 ARG (9.52%)。所有分离株中均检测出 *parC*、*bla_{TEM}* 和 *dhps* 这 3 种 ARG 亚型，检出率为 100%。其次是 *qnrA*、*qnrS* 和 *intI1*，它们的检出率均为 85.71% (6/7)。*aph(3)-Ia* 和 *qnrB* 的阳性检出率也超过了 50%，分别是 71.34% 和 57.14%，而 *tetQ* 和 *intI2* 在所有分离株中均未检测出。

生物气溶胶分离株中共检测到 16 个 ARG 亚型和 2 个 MGE，其中 *parC*、*qnrA*、*bla_{TEM}* 和 *dhps* 的检测率均为 100%，不同季节所检测到的 ARG/MGE 数量排序依次为秋季(14 种)>夏季(9 种)>春季(7 种)。污水分离株中共检测到 24 种

表 4 药敏试验结果

Table 4 Antimicrobial susceptibility test results

药物类别	抗菌药物	生物气溶胶分离株			污水分离株			
Drug category	Antibacterial drug	Bioaerosol isolate			Sewage isolate			
		春 Spring	夏 Summer	秋 Autumn	春 Spring	夏 Summer	秋 Autumn	冬 Winter
四环素类	多西环素 DOX	S	S	R	R	R	S	S
Tetracyclines	四环素 TE	S	S	R	R	R	R	R
磺胺类	复方新诺明 SXT	S	S	R	S	S	S	S
Sulfonamides								
β-内酰胺类	氨曲南 ATM	S	S	S	S	S	S	S
Beta-lactamines	头孢他啶 CAZ	S	S	S	S	S	S	S
	头孢西丁 CFX	R	R	S	R	R	R	R
	亚胺培南 IMP	R	I	R	R	R	R	R
喹诺酮类	左氧氟沙星 LVX	S	S	S	S	S	S	S
Quinolones	环丙沙星 CIP	S	S	S	S	S	S	S
	加替沙星 TGC	S	S	S	S	S	S	S
氨基糖苷类	庆大霉素 GEN	S	S	S	S	S	S	S
Aminoglycosides								

S: Sensitive; R: Resistance; I: Intermediary.

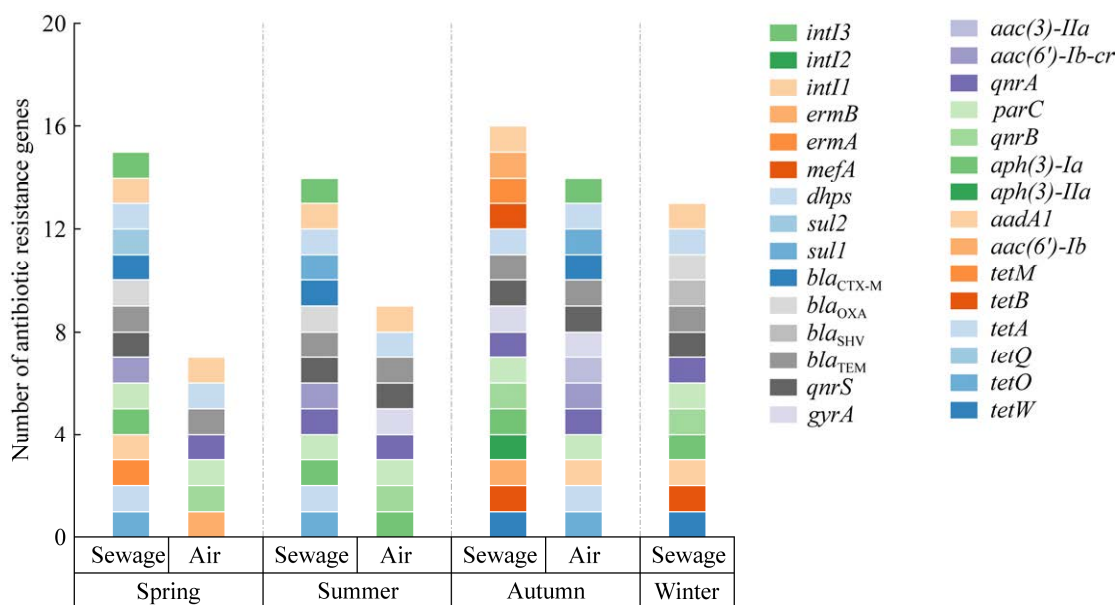


图 3 污水和生物气溶胶分离株中耐药基因检出情况

Figure 3 Detection of drug resistance genes in sewage and bioaerosol isolates.

ARG 亚型和 2 个 MGE, 其中 *aph(3)-Ia*、*parC*、*qnrS*、*bla_{TEM}*、*dhps* 和 *intI1* 在污水分离株中的检出率为 100%。相较于生物气溶胶分离株, 污水分离株中还检测到了 *tetW*、*tetB*、*tetM*、*aph(3)-IIa*、*bla_{OXA}*、*bla_{SHV}*、*sul2*、*mefA*、*ermA*、

ermB 等 9 种亚型, 但 *aac(3)-IIa* 未在污水分离株中检测到。污水分离株中所检测到的 ARG/MGE 数量在秋季最高(16 种), 冬季最低(13 种)。

2.3 空气和污水中耐药基因赋存特征

ARG/MGE 的丰度特征如图 4 所示, 生物

池生物气溶胶中 ARG/MGE 的绝对丰度在不同季节依次为：冬季(26.16 copies/m³)>春季(22.16 copies/m³)>夏季(10.93 copies/m³)>秋季(0.01 copies/m³)，均值为 14.82 copies/m³，高于上风向环境空气(0.51 copies/m³)。MGE 在生物池空气中所占比例最高(39.04%)，其绝对丰度均值为 4.29 copies/m³，其次是氨基糖苷类 ARG (26.79%)和大环内酯类 ARG (18.85%)。春季生物池空气中共检测到 9 种 ARG/MGE 亚型，其中

intI1 的含量最高(9.95 copies/m³)，其次为 *ermX* (4.30 copies/m³)和 *tetL-02* (3.51 copies/m³)。夏季生物池空气中也检测到 9 种亚型，其中 *tnpA-05* 和 *dhps* 的含量最高，分别为 4.05 copies/m³ 和 3.64 copies/m³。秋季生物池空气中 ARG/MGE 的亚型种类最少，只有 4 种，*intI1* 在所检测到的亚型中含量最高(0.005 copies/m³)。冬季生物池空气中所检测到的 ARG/MGE 亚型种类最高(10 种)，其中 *strB* 的占比最高，含量为 25.90 copies/m³。

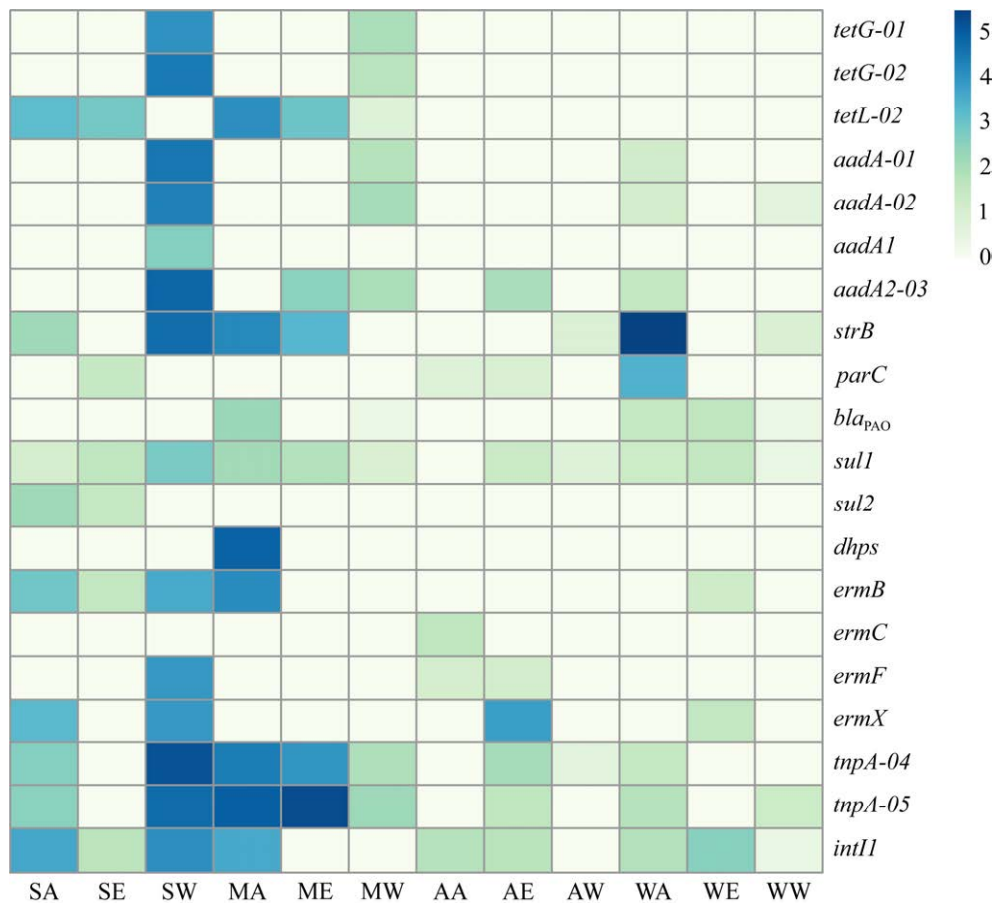


图 4 污水和生物气溶胶样本中 ARG/MGE 丰度热图 SA、MA、AA 和 WA 分别为春、夏、秋、冬季生物池空气；SE、ME、AE 和 WE 分别为春、夏、秋、冬季上风向环境空气；SW、MW、AW 和 WW 分别为春、夏、秋、冬季生物池污水。

Figure 4 Heatmap of ARG/MGE abundance in sewage and bioaerosol samples. SA, MA, AA and WA are spring, summer, autumn and winter biochemical tank air; SE, ME, AE and WE are spring, summer, autumn and winter upwind ambient air; SW, MW, AW and WW are spring, summer, autumn and winter biochemical tank sewage, respectively.

污水中 ARG/MGE 的含量随季节的变化而减少, 春季检测到的 ARG/MGE 绝对丰度最高, 为 67 577.62 copies/mL, 其他季节依次为 5 055.29、136.73 和 72.50 copies/mL。MGE (42.18%)和氨基糖苷类 ARG (37.96%)在污水中所占比例最高, 其绝对丰度均值分别为 8 608.47 copies/mL 和 7 103.37 copies/mL。春季污水中 ARG/MGE 的亚型种类最多(19种), 而秋季检测到的亚型种类最少(3种)。春季和秋季生物池污水中含量最高的 ARG/MGE 分别是 *tnpA-04* (22 158.68 copies/mL)和 *strB* (59.49 copies/mL), *tnpA-05* 在夏季和冬季污水中含量最大, 分别为 1 272.90 copies/mL 和 37.42 copies/mL。

图 5 描述了 ARG/MGE 亚型之间的相关性,

说明它们在传播过程中可能存在相互促进的关系。例如, 转座子 *tnpA-04* 与 *tnpA-05* 不仅与四环素类 ARG (*tetG-01* 和 *tetG-02*)呈显著正相关 ($P<0.5$), 而且还分别对 *sul1* 和 *aadA-02* 的传播起促进作用; 整合子 *int11* 与大环内酯类 ARG (*ermB* 和 *ermX*)之间存在明显的正相关 ($P<0.5$)。四环素类 ARG (*tetG-01* 和 *tetG-02*)与多种 ARG 亚型存在正相关, 如 *aadA-01*、*aadA-02*、*aadA1*、*aadA2-03*、*sul1*、*ermF* 等 ($P<0.5$), 这表明 *tetG-01* 和 *tetG-02* 的存在可能会促进它们的传播。

2.4 ARG/MGE 溯源分析

图 6 展现了生物池空气中 ARG/MGE 的溯源结果。结果表明, 医院污水是生物池空气中 ARG/MGE 的重要来源, 而且存在季节差异。冬

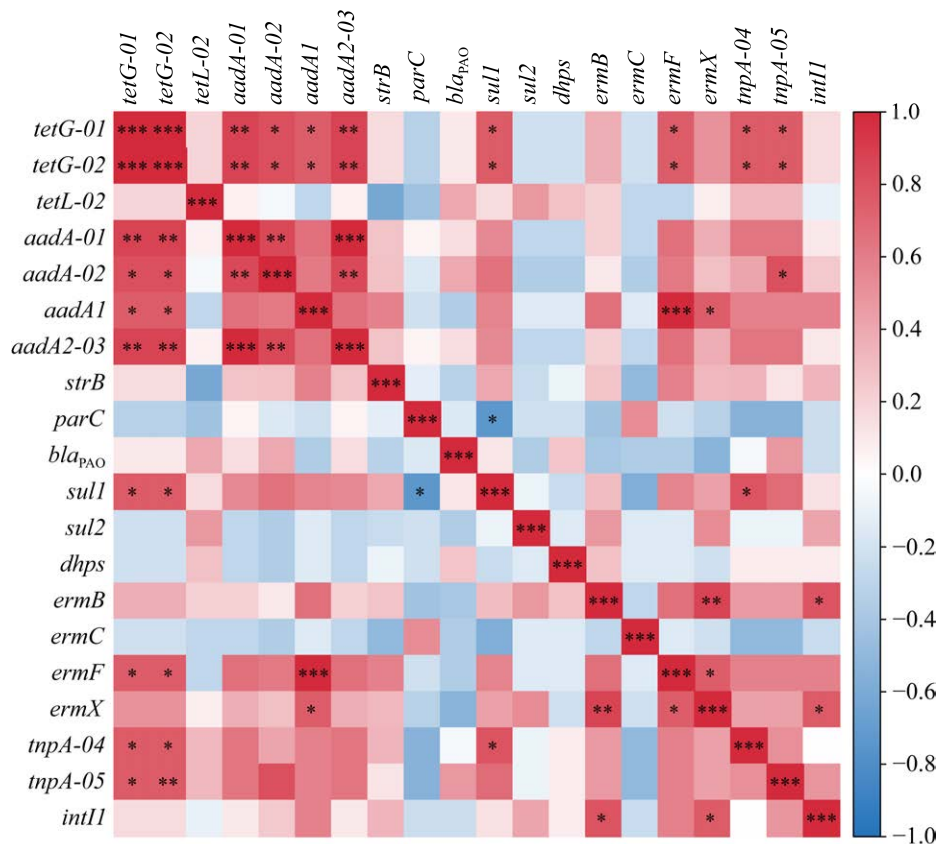


图 5 ARG/MGE 相关性热图

Figure 5 Heatmap of ARG/MGE correlation. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

季污水对生物池生物气溶胶中 ARG/MGE 的贡献率最高, 为 35%; 在春季和夏季, 污水对空气中 ARG/MGE 的贡献率分别为 3%和 1%。

2.5 生物气溶胶耐药风险

如表 5 所示, 生物池生物气溶胶分离株的 MAR 指数范围为 0.091–0.364, 均值为 0.21。秋

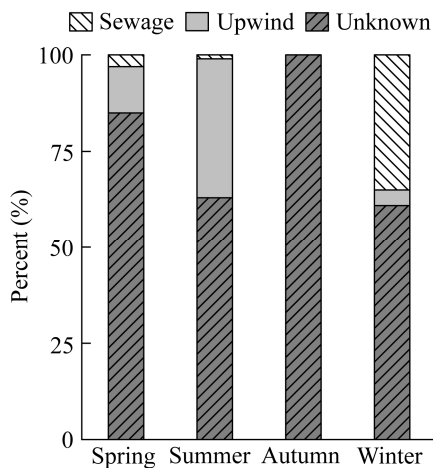


图 6 不同季节生物池空气中 ARG/MGE 的来源
Figure 6 Sources of ARG/MGE from biochemical tank in different seasons.

表 5 生物池细菌分离株的 MAR 指数及气载 ARG/MGE 暴露剂量

Table 5 MAR index of bacterial isolates and exposure dose to airborne ARG/MGE from the biochemical tanks

季节 Season	MAR 指数 MAR index		日暴露剂量 Daily exposure dose (copies/(d·kg))	
	生物气溶胶分离株 Bioaerosol isolate	污水分离株 Sewage isolate	生物池空气 Biochemical tank air	上风向空气 Upwind air
春季 Spring	0.182	0.364	1.314	0.034
夏季 Summer	0.091	0.364	0.648	0.060
秋季 Autumn	0.364	0.273	0.001	0.011
冬季 Winter	–	0.273	1.552	0.016

季生物气溶胶分离株的 MAR 指数为 0.364 (>0.2), 这意味着秋季生物池空气中抗生素污染水平较高, 可能是潜在的高危抗生素暴露源。相较于生物气溶胶, 污水分离株的 MAR 指数均值为 0.32, 在所有季节均大于 0.2, 说明医院污水处理站生物池污水被抗生素污染严重。经计算, 生物池附近人群吸入 ARG/MGE 的日暴露剂量均值为 0.88 copies/(d·kg), 高于上风向空气 0.03 copies/(d·kg)。生物池环境中 ARG/MGE 的日暴露剂量在冬季最高, 为 1.552 copies/(d·kg), 其他季节依次为春季>夏季>秋季。

3 讨论

3.1 生物气溶胶分布及影响因素

Uhrbrand 等调查发现丹麦某医院污水处理站空气细菌的浓度为 24–271 CFU/m³[19], 这与本研究中细菌气溶胶的含量相似。生物池空气中细菌含量高于周围环境, 这是因为生物池污水中小粒径微生物在曝气过程中可随着水面扰动和水滴喷溅逸散到空气中[20]。生物气溶胶的生存能力与温度和相对湿度密切相关[21], 适宜生物气溶胶生存的温度和湿度分别为 27.6–40.1 °C 和 37.8%–57.4%[17]。本研究中夏季温度最高(35.5 °C), 有利于微生物的生长和扩散。而且夏季湿度也较高, 高相对湿度可阻碍生物气溶胶液滴的蒸发, 延迟了空气中微生物的死亡, 所以夏季空气细菌浓度最高。冬季温度最低, 微生物活性降低, 进而导致冬季空气细菌浓度降低。相较于南北门, 生物池空气中小粒径细菌占比最高, 这是因为细菌气溶胶的粒径分布主要受细菌种类、气象条件及污染源差异的影响[22], 污水的曝气作用可能增加了生物池空气中小粒径细菌占比, Wang 等[23]同样发现市政污水厂生物池气溶胶中小粒径细菌气溶胶占比最高(53.7%)。小颗粒物可在空气中长时间悬浮, 更易沉积在末梢细

支气管和肺泡中^[24], 携带 ARG 的小粒径细菌气溶胶可能对人体健康造成更严重的损害, 因此需重视生物池生物气溶胶的传播风险。

3.2 ARG/MGE 的赋存特征

Ginn 等^[25]在印度露天下水道的空气中检测到 ARG 的密度为 $6.9 \times 10^1 - 5.2 \times 10^3$ copies/m³。Sun 等^[26]检测到我国东西部不同海拔污水厂进出水中 ARG 的浓度范围为 $6.57 \times 10^4 - 1.12 \times 10^6$ copies/mL。本研究医院生物池环境 ARG/MGE 含量略低于先前研究, 这可能是因为不同污水类型残留的抗生素类型和含量存在差异, 抗生素的存在会刺激耐药菌及 ARG 的产生, 进而影响环境中 ARG/MGE 的浓度。

医院生物池环境中 ARG/MGE 类型与先前研究较为相似, 大环内酯类抗生素(8%)和氨基糖苷类抗生素(7%)在医院空气中比例较高^[27], 医院生物池环境中也同样含有高比例的相关 ARG, 比如 *aadA2-03*、*aadA-02* 和 *strB* 是生物池污水中的优势 ARG, 而 *ermX*、*ermB*、*ermC*、*ermF* 和 *strB* 在生物池空气中较为常见。医院污水处理环境中 *parC*、*bla_{TEM}* 和 *dhps* 在所有大肠杆菌分离株中的检出率均为 100%, 其次是 *qnrA*、*qnrS* 和 *intI1* (85.71%), 这一结果在一定程度上反映了医院污水源耐药菌的耐药情况。Rowe 等^[28]在医院流出物中检测到高丰度的 β -内酰胺类 ARG, 而药敏试验结果显示医院生物池环境中大肠杆菌对 β -内酰胺类抗生素头孢西丁和亚胺培南的耐药率最高, 其次是四环素类抗生素。 β -内酰胺类抗生素的抗菌谱中含有大量革兰氏阴性条件致病菌, 大量使用 β -内酰胺类抗生素可提高这些条件致病菌对其的耐药水平, 因此监测 β -内酰胺类 ARG 的污染状况十分重要。喹诺酮类药物是尿路感染治疗的首选药物, 经常在临床上使用^[29], Kumar 等^[30]在斯里兰卡医院污水中检测到了 *aac-(6')-Ib-cr*、*qnrB*、*qnrS* 和 *parC*

等多种喹诺酮类 ARG, 这几种 ARG 在医院生物池生物气溶胶分离株中也有检出。ARG 的存在会导致致病菌对喹诺酮类药物产生耐药性^[31], 但药敏试验中分离菌株对左氧氟沙星、环丙沙星等药物并不耐药, 这可能是因为分离株中喹诺酮类 ARG 表达量不足。I 型整合子介导的 ARG 水平转移是微生物产生耐药性的重要途径^[32], 本研究在所有季节生物池空气中均检测到了 *intI1* 的存在, 而且大肠杆菌分离株中 *intI1* 的检出率为 85.71%, 相关性结果表明, *intI1* 与 *ermB* 和 *ermX* 丰度存在正相关。*intI1* 作为抗性传播的核心角色, 其在偶联质粒转移后激活, 使宿主细菌迅速发展抗生素耐药性^[33], 因此 *intI1* 可能在 *ermB* 和 *ermX* 传播过程中发挥着重要作用。

3.3 ARG/MGE 的暴露风险及控制措施

Korzeniewska 等^[34]将含有医院废水的进水确定为高危抗生素暴露源, 其 MAR 指数为 0.50。Zhang 等^[35]研究表明市政污水厂及附近居民社区空气的 MAR 指数为 0.19。本研究中医院生物气溶胶和污水总体的 MAR 指数为 0.21 和 0.32, 均大于 0.2, 说明医院污水站生物池可能是潜在的高危抗生素暴露源。医院污水源生物气溶胶中 ARG/MGE 的绝对丰度在春冬季最高, 这可能与不同季节使用的药物处方数量和抗生素残留有关。研究证明, 新型冠状病毒肺炎主要在春季和冬季流行^[36], 由于传染病流行率的增加, 抗生素处方率也随之升高, 大部分未被吸收的抗生素及其代谢产物被排放到医院废水中, 进而增加了污水及空气中 ARG/MGE 含量^[37]。空气中携带 ARG/MGE 的致病菌可对人类健康构成严重威胁^[38], 医院生物池附近人群在春冬季吸入 ARG/MGE 的日暴露剂量最高, 说明春冬季接触生物气溶胶风险可能高于其他季节。因此, 应综合考虑季节特征和环境因素, 对医院

污水源生物气溶胶开展针对性管控措施。春秋季节过敏性疾病频发,定期对污水处理设施进行检查和维护,可防止细菌和病毒的滋生和传播。夏季的高温天气可促进致病菌和病毒的繁殖和传播,建议加强消毒和清洁工作。冬季气温低,呼吸道感染性疾病较为流行,医护人员及污水设施附近人群应加强个人防护,佩戴口罩等防护用具。

4 结论

医院污水处理站生物气溶胶浓度在夏季最高,冬季最低。生物池环境样本中大肠杆菌分离株对 β -内酰胺类头孢西丁和亚胺培南的耐药率最高,其次是四环素类,空气和污水样本分离的大肠杆菌菌株中 ARG/MGE 亚型在秋季最多,分别为 14 和 16 种。生物池污水是空气中耐药基因的重要来源。秋季生物池空气中抗生素污染水平最高,而春冬季空气中耐药基因含量及呼吸日暴露剂量最高。因此,应根据季节特征对医院污水源生物气溶胶采取针对性防护措施。

REFERENCES

- [1] 蔡天贵, 张龙, 张晋东. 抗生素抗性基因的生态风险研究进展[J]. 应用生态学报, 2022, 33(5): 1435-1440. CAI TG, ZHANG L, ZHANG JD. Research advances in ecological risk of antibiotic resistance genes[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(5): 1435-1440 (in Chinese).
- [2] LI SN, ONDON BS, HO SH, JIANG JW, LI FX. Antibiotic resistant bacteria and genes in wastewater treatment plants: from occurrence to treatment strategies[J]. The Science of the Total Environment, 2022, 838(Pt 4): 156544.
- [3] WANG YJ, YANG K, GUO XB, ZHAO S, LU ZQ, YANG LY, SONG HL, ZHOU GY. The generation characteristics, pattern, and exposure risk of bioaerosol emitted in an A²O process wastewater treatment plant[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 241: 113823.
- [4] GAO YX, LI X, FAN XY, ZHAO JR, ZHANG ZX. Wastewater treatment plants as reservoirs and sources for antibiotic resistance genes: a review on occurrence, transmission and removal[J]. Journal of Water Process Engineering, 2022, 46: 102539.
- [5] WANG YZ, WANG C, SONG L. Distribution of antibiotic resistance genes and bacteria from six atmospheric environments: exposure risk to human[J]. The Science of the Total Environment, 2019, 694: 133750.
- [6] LI Y, FU Y, QIU YC, LIU Q, YIN M, ZHANG LH. Genomic characterization of tigecycline-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospital sewage[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1282988.
- [7] WANG YJ, ZHANG S, LI L, ZHANG Q, YANG LY, YANG K, LIU Y, ZHU HR, LAI BS, WU J, HUA LL. Airborne ARG/MGE from two sewage types during the COVID-21: population, microbe interactions, cytotoxicity, formation mechanism, and dispersion[J]. Water Research, 2024, 254: 121368.
- [8] 文金凤. 四川省禽源 tet(X4)阳性大肠杆菌分离鉴定及 tet(X4)分子传播特性研究[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文论文, 2023. WEN JF. Isolation and identification of avian-derived tet(X4)-positive *Escherichia coli* and characterization of molecular transmission of tet(X4) in Sichuan Province[D]. Ya'an: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2023 (in Chinese).
- [9] ZHAO JY, DANG HY. Coastal seawater bacteria harbor a large reservoir of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in Jiaozhou Bay, China[J]. Microbial Ecology, 2012, 64(1): 187-199.
- [10] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (M100-S33)[S]. Wayne, PA: CLSI, 2023.
- [11] OUYANG WY, HUANG FY, ZHAO Y, LI H, SU JQ. Increased levels of antibiotic resistance in urban stream of Jiulongjiang River, China[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(13): 5697-5707.
- [12] ZHAO S, LIU Y, CHANG J, WANG JW, PENG H, CUI BC, BAI J, WANG YJ, HUA LL. Bioaerosols in deodorization covers of wastewater treatment plants: emission characteristics and health risks[J]. Chemosphere, 2024, 353: 141552.
- [13] BAI H, HE LY, WU DL, GAO FZ, ZHANG M, ZOU HY, YAO MS, YING GG. Spread of airborne antibiotic resistance from animal farms to the environment: dispersal pattern and exposure risk[J]. Environment International, 2022, 158: 106927.
- [14] KRUMPERMAN PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1983, 46(1): 165-170.
- [15] United States Environmental Protection Agency. Exposure factors handbook 2011 edition (final report)[R]. EPA/600/R-09/052F. Washington, DC: Environmental Protection Agency, Office of Research Development, 2011.
- [16] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册-成人卷, Adults: 成人卷 Adults[M]. 北京: 中国环境出版社, 2013. Ministry of Environmental Protection. Exposure factors handbook of Chinese population[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2013 (in Chinese).
- [17] YANG KX, LI L, WANG YJ, XUE S, HAN YP, LIU JX. Airborne bacteria in a wastewater treatment plant: emission characterization, source analysis and health risk assessment[J]. Water Research, 2019, 149: 596-606.
- [18] 赵伟, 孙强, 李杰, 王亚娥, 谢慧娜, 宋鹏飞. 医院环境微生物气溶胶分布特性与健康风险评估[J]. 兰州交通

- 大学学报, 2019, 38(4): 83-90, 104.
ZHAO W, SUN Q, LI J, WANG YE, XIE HN, SONG PF. Distribution characteristics and health risk assessment of microbial aerosol in hospital environment[J]. Journal of Lanzhou Jiaotong University, 2019, 38(4): 83-90, 104 (in Chinese).
- [19] UHRBRAND K, SCHULTZ AC, KOIVISTO AJ, NIELSEN U, MADSEN AM. Assessment of airborne bacteria and noroviruses in air emission from a new highly-advanced hospital wastewater treatment plant[J]. Water Research, 2017, 112: 110-119.
- [20] WANG YJ, LI L, HAN YP, LIU JX, YANG KX. Intestinal bacteria in bioaerosols and factors affecting their survival in two oxidation ditch process municipal wastewater treatment plants located in different regions[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 154: 162-170.
- [21] GUI ZC, LI X, LIU ML, PENG ZD, YAN C, NASIR ZA, ALCEGA SG, COULON F. Seasonal variation of quantitative microbial risk assessment for three airborne enteric bacteria from wastewater treatment plant emissions[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 240: 113689.
- [22] 马丽新, 齐虹, 孙霞忠. 大气气溶胶粒径分布特征与呼吸系统暴露评估研究进展[J]. 环境科学学报, 2020, 40(10): 3549-3558.
MA LX, QI H, SUN XZ. Research progress on aerosol particle size distribution characteristics and respiratory system exposure assessment[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, 40(10): 3549-3558 (in Chinese).
- [23] WANG YJ, ZHANG S, HONG Q, SONG HL, YANG LY, YANG K, XU H, YU FF. Characteristics, non-carcinogenic risk assessment and prediction by HYSPLIT of bioaerosol released from Hospital and Municipal Sewage, China[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 246: 114131.
- [24] JIA H, LIU Y, GUO D, HE W, ZHAO L, XIA SY. PM_{2.5}-induced pulmonary inflammation via activating of the NLRP3/caspase-1 signaling pathway[J]. Environmental Toxicology, 2021, 36(3): 298-307.
- [25] GINN O, BERENDES D, WOOD A, BIVINS A, ROCHA-MELOGNO L, DESHUSSES MA, TRIPATHI SN, BERGIN MH, BROWN J. Open waste canals as potential sources of antimicrobial resistance genes in aerosols in urban Kanpur, India[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2021, 104(5): 1761-1767.
- [26] SUN HW, ZHANG H, WU DS, DING J, NIU YJ, JIANG TT, YANG XY, LIU YC. Deciphering the antibiotic resistome and microbial community in municipal wastewater treatment plants at different elevations in eastern and Western China[J]. Water Research, 2023, 229: 119461.
- [27] HE P, WU Y, HUANG WZ, WU XW, LV JY, LIU PD, BU L, BAI ZJ, CHEN SY, FENG WR, YANG ZC. Characteristics of and variation in airborne ARGs among urban hospitals and adjacent urban and suburban communities: a metagenomic approach[J]. Environment International, 2020, 139: 105625.
- [28] ROWE WPM, BAKER-AUSTIN C, VERNER-JEFFREYS DW, RYAN JJ, MICALLEF C, MASKELL DJ, PEARCE GP. Overexpression of antibiotic resistance genes in hospital effluents over time[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2017, 72(6): 1617-1623.
- [29] TENNSTEDT T, SZCZEPANOWSKI R, BRAUN S, PÜHLER A, SCHLÜTER A. Occurrence of integron-associated resistance gene cassettes located on antibiotic resistance plasmids isolated from a wastewater treatment plant[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 45(3): 239-252.
- [30] KUMAR M, RAM B, SEWWANDI H, Sulfikar, HONDA R, CHAMINDA T. Treatment enhances the prevalence of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes in the wastewater of Sri Lanka, and India[J]. Environmental Research, 2020, 183: 109179.
- [31] HOOPER DC, JACOBY GA. Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2015, 1354(1): 12-31.
- [32] 苏志国, 张衍, 代天娇, 陈嘉瑜, 张永明, 温东辉. 环境中抗生素抗性基因与I型整合子的研究进展[J]. 微生物学通报, 2018, 45(10): 2217-2233.
SU ZG, ZHANG Y, DAI TJ, CHEN JY, ZHANG YM, WEN DH. Antibiotic resistance genes and class 1 integron in the environment: research progress[J]. Microbiology China, 2018, 45(10): 2217-2233 (in Chinese).
- [33] JU F, BECK K, YIN XL, MACCAGNAN A, McARDELL CS, SINGER HP, JOHNSON DR, ZHANG T, BÜRGMANN H. Wastewater treatment plant resistomes are shaped by bacterial composition, genetic exchange, and upregulated expression in the effluent microbiomes[J]. The ISME Journal, 2019, 13: 346-360.
- [34] KORZENIEWSKA E, KORZENIEWSKA A, HARNISZ M. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2013, 91: 96-102.
- [35] ZHANG MY, ZUO JE, YU X, SHI XC, CHEN L, LI ZX. Quantification of multi-antibiotic resistant opportunistic pathogenic bacteria in bioaerosols in and around a pharmaceutical wastewater treatment plant[J]. Journal of Environmental Sciences (China), 2018, 72: 53-63.
- [36] HE ZY, TENG LY, TAN QY. Utilizing Baidu index to track online interest in influenza during the COVID-19 pandemic in China[J]. Cureus, 2022, 14(8): e27582.
- [37] CAUCCI S, KARKMAN A, CACACE D, RYBICKI M, TIMPEL P, VOOLAID V, GURKE R, VIRTÀ M, BERENDONK TU. Seasonality of antibiotic prescriptions for outpatients and resistance genes in sewers and wastewater treatment plant outflow[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(5): fiw060.
- [38] CERQUEIRA F, MATAMOROS V, BAYONA J, PIÑA B. Antibiotic resistance genes distribution in microbiomes from the soil-plant-fruit continuum in commercial *Lycopersicon esculentum* fields under different agricultural practices[J]. The Science of the Total Environment, 2019, 652: 660-670.