

细菌对抗生素与重金属的联合抗性机制研究进展*

戎玲玲 王复标 吴礼贵 冯关萍 肖小雨 邹小明[#]

(井冈山大学生命科学学院,江西 吉安 343009)

摘要 抗生素抗性基因(ARGs)和重金属抗性基因(HRGs)已被普遍视为新型环境污染物,二者之间存在联合抗性机制。因此,抗生素和重金属联合污染下细菌的抗性研究受到了广泛关注。总结了细菌中 ARGs 和 HRGs 的来源,综述了协同抗性、交叉抗性、协同调控抗性和生物被膜抗性 4 种联合抗性机制,并对今后的研究方向进行了展望,对新型抗菌药物的开发、解释或推测联合抗性发生的原因具有一定的指导意义。

关键词 协同抗性 交叉抗性 协同调控抗性 生物被膜抗性

DOI:10.15985/j.cnki.1001-3865.2021.08.023

Research advances on the co-contaminated resistance mechanism of antibiotics and heavy metals in bacteria RONG Lingling, WANG Fubiao, WU Liguai, FENG Guanping, XIAO Xiaoyu, ZOU Xiaoming. (College of Life Sciences, Jinggangshan University, Ji'an Jiangxi 343009)

Abstract: Antibiotics resistance genes (ARGs) and heavy metals resistance genes (HRGs) are considered as emergent environmental pollutants commonly. Environmental bacteria are generally exposed to combinations of these pollutants. Therefore, the study of bacterial resistance under the co-contamination of antibiotics and heavy metals has attracted extensive attention. The origin of ARGs and HRGs in bacteria was summarized. 4 co-contaminated resistance mechanisms, namely co-resistance mechanism, cross-resistance mechanism, co-regulation resistance mechanism and biofilm resistance mechanism were reviewed. The future research directions were prospected. It had important significance for the development of new antibacterial agent and explanation for co-contaminated resistance mechanisms.

Keywords: co-resistance; cross-resistance; co-regulation resistance; biofilm resistance

环境中的生物已经不可避免地面临着污染物的联合影响^[1-2]。抗生素和重金属是两类典型的环境污染物。环境中的抗生素主要来源于医疗、农牧养殖及工业生产等;环境中的重金属主要来源于农牧养殖、工农业生产及矿山开采等。抗生素和重金属在环境中都具有持久性特征^[3-4],因此环境中的抗生素和重金属联合污染状况日益严峻^[5]。

研究表明,当细菌受到抗生素或重金属胁迫时会诱导产生抗生素抗性基因(ARGs)或重金属抗性基因(HRGs)。KNAPP 等^[6]研究发现,农田土壤中铜污染可诱导细菌产生 *tetM*、*tetW*、*bla_{OXA}*、*ermB*、*ermF*、*copA*、*pcoB* 等抗性基因;ALONSO 等^[7]临床研究分离到的嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)中发现含有 *mphB*、*cadA* 等抗性基因及 *cadA* 的转录调控基因 *cadC*。细菌中的

ARGs 和 HRGs 可通过水平转移、基因重组等方式进行传播、扩散^[8]。因此,ARGs 和 HRGs 已被普遍视为新型环境污染物,而且 ARGs 已被世界卫生组织(WHO)视为 21 世纪威胁人类健康的最重大挑战之一^[9]。

细菌中的可移动遗传元件(MGEs)是 ARGs 和 HRGs 进行水平转移的主要载体,能促进基因重组^[10],促使 ARGs 和 HRGs 在不断重组、水平转移过程中形成联合抗性^[11]。ENNE 等^[12]研究发现,单独降低磺胺类抗生素含量并不能有效控制磺胺类 ARGs 的丰度,原因是磺胺类 ARGs 与汞抗性基因位于同一 MGE 上,存在协同抗性,磺胺类 ARGs 的丰度同时受汞含量的影响。此外,交叉抗性、协同调控抗性和生物被膜抗性也是抗生素和重金属的联合抗性机制^[13]。因此,本研究在归纳总结细菌中

第一作者:戎玲玲,女,1987年生,硕士,实验师,主要从事分子生物学和生态毒理学研究。[#]通讯作者。

* 江西省教育厅科技计划青年项目(No.GJJ190569);井冈山大学博士科研启动项目(No.JZB1901);江西省自然科学基金资助项目(No.20181BAB203023、No.20192BAB214014);江西省博士后择优资助项目(No.2019KY48);邹小明杰出青年人才资助计划项目(No.20192BCBL23014)。

ARGs 和 HRGs 来源的基础上,综述了协同抗性、交叉抗性、协同调控抗性和生物被膜抗性 4 种联合抗性机制。

1 细菌中 ARGs 和 HRGs 的来源

具有联合抗性机制的细菌常称为多抗细菌,在环境中广泛分布,其携带的 ARGs 和 HRGs 可通过多抗细菌自身繁殖进行垂直传播,也可通过细菌间的转导、结合等途径水平转移。细菌的抗性可分为内在固有抗性和外源获得抗性。

1.1 内在固有抗性

细菌的内在固有抗性是指存在于细菌基因组上的抗性基因原型、准抗性基因或未表达的抗性基因产生的抗性^[14-15],是细菌与生俱来的,有种属特异性^[16]。环境中的抗生素可以作为细菌种群间或种群内的信号分子,激活细菌的内在固有 ARGs,使其产生抗性表达,这是 ARGs 潜在的产生源^[17]。随着多种细菌基因组和环境宏基因组测序技术的发展,科学家发现环境中存在着大量潜在 ARGs 及与抗性基因水平转移相关的 MGEs^[18]。

同样,作为细菌生长所需的微量元素的重金属也会激活菌体内固有的 HRGs,使其表现重金属耐受性^[19]。在高浓度重金属环境下(如火山喷发口)生存的细菌,通常具有 HRGs。PAL 等^[20]就在火山喷发口检测到细菌中含有 HRGs。科学家通过分析多年冻土和深层地下水发现,古细菌中铜和汞的古老抗性基因保守 DNA 序列与现代铜和汞的抗性基因相似度在 95% 以上^[21-22]。

1.2 外源获得抗性

外源获得抗性是指细菌通过基因变异、获取新的基因等途径而获得的抗性。外源 ARGs 和 HRGs 主要通过质粒、整合子和转座子等 MGEs 在细菌间进行转移,少部分以结合、转化或转导的方式完成转移^[23]。获得新的抗性基因的细菌形成了变种,获得的新抗性又成为了该变种细菌的内在固有抗性。

多抗细菌最初是在人体内发现的,它们随粪便排出体外,进入环境,从而将携带的抗性基因通过水平转移传播到环境中的细菌里^[24]。污水处理厂产生的污泥中含大量抗生素和重金属的抗性细菌,排放后,各类抗性基因就进入了环境中^[25]。水产养殖场常有 ARGs 和 HRGs 检出,有研究发现四环素类的抗性基因 *tetE* 与铜的抗性基因 *cueR* 位于同一质粒上^[26]。畜牧养殖业由于常用重金属作为添加剂或用抗生素防治畜牧病患,造成动物体内耐药细菌

的产生,这些耐药细菌及其携带的 ARGs 和 HRGs 随排泄物进入环境^[27]。在我国的养猪场附近土壤中,四环素类、磺胺类 ARGs 和铜 HRGs 检出率较高,施用猪粪的农田土壤相比未施用猪粪的农田土壤检出更高水平的 ARGs 和 HRGs^[28-29]。由此可见,细菌通过抗生素或重金属诱导获得 ARGs 和 HRGs 而具有外源获得抗性已是普遍存在的现象。

2 抗生素与重金属联合抗性机制

2.1 协同抗性机制

协同抗性机制一般是指细菌中的多种特定抗性基因空间上位于同一个 MGEs 上,如同一个质粒、转座子或整合子上^[30],通常涉及汞、铜、银、砷、镉等 HRGs 和磺胺类、四环素类、大环内酯类等 ARGs^[31]。

具有协同抗性机制的 ARGs 和 HRGs 除位于同一个 MGEs 外,也有在其他地方发现的。LIMA 等^[32]研究发现,在伤寒沙门氏菌(*Salmonella Typhi*)中还在 SGI11 基因组岛上同样共存着 ARGs (*bla*_{TEM-1}、*cat* A1、*str* A、*str* B、*sul* 1、*sul* 2、*dfr* A7) 和 HRGs (*mer* E、*mer* D、*mer* A、*mer* C、*mer* P、*mer* T、*mer* R)。MGEs 或基因组岛对 ARGs 和 HRGs 的水平转移起着重要作用,它们的归趋必将影响抗性基因的环境效应,但目前研究多聚焦于抗性基因种类和数量,对抗性基因的环境归趋研究还甚少。表 1 总结了一些常见细菌中具有协同抗性的 ARGs 和 HRGs。

2.2 交叉抗性机制

交叉抗性机制一般是指细菌中某一代谢系统对不同的污染物(抗生素或重金属)同时产生抗性的机制,即不同的污染物攻击同一靶点而启动细胞的共同通路,使之对不同污染物同时具有抗性,如外排泵系统(又称射流系统)^[36],其原理是降低细胞内污染物的浓度,减少累积^[37]。外排泵是一种转运蛋白,可分为 7 个家族:(1)三磷酸腺苷(ATP)结合盒(ABC)超家族;(2)抗性结节分化(RND)超家族;(3)易化(MFS)超家族;(4)多药及毒性化合物外排(MATE)家族;(5)小多耐药抗性(SMR)家族;(6)蛋白细菌抗菌化合物外排(PACE)家族;(7)p-氨基苯甲酰-谷氨酸盐转运蛋白(AbgT)家族。除 ABC 超家族是一类直接利用 ATP 水解能的主动转运蛋白外,其他 6 个家族均是利用离子电化学膜梯度为能源的次级主动转运蛋白^[38],各类外排泵家族的蛋白结构特征及针对性底物见表 2。

表 1 常见细菌中具有协同抗性的 ARGs 和 HRGs
Table 1 Co-resistance of ARGs and HRGs in common bacteria

抗性基因源	ARGs	HRGs	抗性基因位置	参考文献
伤寒沙门氏菌	<i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>strA</i> , <i>strB</i> , <i>dfrA7</i> , <i>catA1</i>	<i>merE</i> , <i>merD</i> , <i>merA</i> , <i>merC</i> , <i>merP</i> , <i>merT</i> , <i>merR</i>	pHCM1 质粒和 SGI11 基因岛组	[32]
牛粪肠球菌 (<i>Enterococcus faecium</i>)	<i>ermB</i> , <i>tetM</i>	<i>tcrB</i>	Tn916/Tn1545 转座子	[33]
大肠杆菌 (<i>Escherichia coli</i>)	<i>oqxAB</i> , <i>aac</i> (6')-Ib-cr	<i>pcoE</i> , <i>pcoA</i> , <i>pcoB</i> , <i>pcoC</i> , <i>pcoD</i> , <i>pcoR</i> , <i>pcoS</i> , <i>pcoE</i> , <i>silE</i> , <i>silS</i> , <i>silR</i> , <i>silC</i> , <i>silB</i> , <i>silA</i> , <i>silP</i>	IncHI2 质粒	[34]
杀鲑气单胞菌 (<i>Aeromonas salmonicida</i>)	<i>floR</i> , <i>tetA</i> , <i>terR</i> , <i>strB</i> , <i>strA</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>aadA7</i> , <i>bla</i> _{CMY-2}	<i>merR</i> , <i>merT</i> , <i>merP</i> , <i>merA</i> , <i>merB</i> , <i>merD</i> , <i>merE</i>	pSN254 质粒	[35]

表 2 各类外排泵家族的蛋白结构特征及针对性底物
Table 2 Proteins structural characteristics and target substrates of 7 kinds of efflux pumps

外排泵家族	典型外排泵	结构特征	针对性底物	参考文献
ABC 超家族	Sav1866	具有 2 个含底物转运通路的跨膜区域(TMDs)和 2 个结合/水解 ATP 的核酸结合区域(NBDs);为同源或异源二聚体,每个单体含有 6 个 α -螺旋跨膜片段(TMS),遵循 2×6 α -螺旋模式,共 12 个 TMS;能量源自于 ATP 水解	氨基糖苷类、大环内酯类、四环素类、氟喹诺酮类抗生素,有毒重金属离子	[38]至[48]
RND 超家族	AcrA-AcrB-TolC	具有 12 个 TMS 和 2 个大的亲水质周结构域;N 端和 C 端具有同源序列;由 3 个蛋白(膜融合蛋白、内膜蛋白和外膜蛋白)形成的转运复合体;能量源自于 H ⁺ 流	β -内酰胺、新生霉素、四环素类、红霉素类、氨基糖苷类抗生素,铜、锌、钴、镍、银、钨等重金属	[38],[49]至[55]
MFS 超家族	MdfA	具有 12 个 TMS,遵循 2×6 α -螺旋模式;Motif A 是特异性保守基序;含 MFS-叠层序列(6 个连续的 TMS 序列组成的重复序列);膜包埋的中央空腔形成基质转运通路;细胞质中有环状突触;能量源自于 H ⁺ 流或 Na ⁺ 流	林可酰胺类、大环内酯类、链阳菌素类、四环素类抗生素,镉、锌等重金属	[40],[56]至[61]
MATE 家族	NorM	含 400~550 个氨基酸,12 个 TMS,TMS 只有 45% 的相似性,有共同的结构和功能特征;跨膜蛋白含 2 个 6-TMS 捆绑束(分别含 TMS 1 至 TMS 6 和 TMS 7 至 TMS 12),形成一个面向胞外的内腔;H ⁺ 流、Na ⁺ 流或二者共同作为能量源	诺氟沙星、环丙沙星、卡那霉素、链霉素、乙非啶、金属 Cs ⁺	[57],[62]至[65]
SMR 家族	EmrE	分为 3 个亚家族(小多耐药泵(SMP)、成对小多耐药抗性泵(PSMP)、分子伴侣 <i>groEL</i> 突变体蛋白的抑制子(SUG));SMP 含 2 个系统发育簇,具有疏水性,通常在限定的 4 个 TMS 中含有 100~150 个氨基酸,是同源二聚体;PSMP 同时表达 2 个 SMR 基因拷贝,位于同一操纵子内,形成反向异质二聚体;SUG 位于 SMP 的等位基因上,编码形成具有 4 个 α -螺旋的单体;能量源自于 H ⁺ 流	乙非啶、吡啶黄、甲基紫精、苯甲羟胺、四环素类、红霉素类、磺胺嘧啶类抗生素,重金属	[66]至[69]
PACE 家族	AccI	位于细胞膜上,约 150 个残基,包含 2 个串联的细菌跨膜对(BTP);以单体形式起作用;能量源自于 H ⁺ 流	氯己定、苯烷胺、原黄素、吡啶黄、地喹氯铵等抗生素,重金属	[70]至[73]
AbgT 家族	AbgT	蛋白为二聚体;每个单体含 9 个 TMS 和 2 个发夹结构;二聚体形成碗状结构,从细胞质中延伸到细胞膜的双分子层;能量主要源自于 H ⁺ 流,部分源自于 Na ⁺ 流	磺胺类抗生素,重金属	[38],[74]至[75]

目前,外排泵系统是抗生素和重金属交叉抗性机制的主要表现形式,研究发现的排泵系统种类及蛋白数量也在不断增加,但外排泵系统之外的交叉抗性机制研究还非常有限。

2.3 协同调控抗性机制

协同调控抗性机制是指在某种抗生素或重金属胁迫下,细菌通过一系列转录、翻译、应答等信号转导系统对外源刺激做出调控的抗性机制^[75]。其中,由膜定位的感应激酶或组氨酸激酶(HK)和胞质中的反应调节子(RR)组成双组分调控系统(TCS)是

细菌中存在最广泛的协同调控抗性机制^[76]。

环境中抗生素或重金属污染都能触发细菌中的协同调控抗性机制,两者均不但可以增强细菌抗性,而且还可以使其 ARGs 和 HRGs 表达上调。在革兰氏阳性细菌中,万古霉素抗性由 VanRS TCS 调控,VanS 感应激酶对胞外糖肽类抗生素做出应答,将磷酸基团传递给 VanR 调节蛋白,活化的 VanR 调节蛋白可以与 DNA 结合进而激活染色体上相应的 *vanH*、*vanA*、*vanX* 等抗性基因^[77]。POOLE 等^[78]研究发现,锌可以激发铜绿假单胞菌(*Pseudo-*

monas aeruginosa) 的锌抗性, 还可以提高菌株对氨基糖苷类抗生素的抗性, 究其原因是锌可以激活 AmgRS TCS 上调表达氨基糖苷类抗生素的 mexXY 外排泵操纵子。KREAMER 等^[79] 研究发现, BqsRS TCS 可以调控铜绿假单胞菌对铁和氨基糖苷类抗生素的抗性, BqsS 感应激酶通过 RExxE 基序感知 Fe^{2+} 浓度变化, 将磷酸信号传递给 BqsR 调节蛋白, BqsR 调节蛋白通过结合一连串 DNA 序列激活转录系统使相关 ARGs 和 HRGs 表达上调。除外源重金属或抗生素外, 细菌胞内某些生长所需组分浓度升高也可能激发 TCS 的调控作用。LIU 等^[80] 研究发现, 在嗜麦芽寡养单胞菌中, 调控多黏菌素 B、氯霉素、氨基青霉素、庆大霉素等氨基糖苷类 ARGs 的 PhoPQ TCS 受胞内高浓度 Mg^{2+} 的影响, 使 SmeZ 外排泵表达上调, 与此同时, 细菌对该 SmeZ 外排泵调控的重金属和抗生素抗性增加。具有同源性的 TCS 在接受相同重金属刺激时还会作出不同的反应。LIU 等^[81] 研究发现, 调控 *czcCBA* 外排泵的 *czcRSs* TCS 包含 *czcRS1* 和 *czcRS2*, 前者的转录受 Cd^{2+} 的抑制, 而后的转录却被 Cd^{2+} 促进。由此可见, 细菌的协同调控抗性机制依赖于一系列复杂的信号转导和相关基因的转录、翻译等过程, 是菌体内在固有抗性和外源获得抗性间转化的桥梁。

2.4 生物被膜抗性机制

生物被膜抗性机制是在一类包裹于细菌胞外的具有胶黏性的以多聚糖为主的多聚物基质 (EPS) 及其周边沉淀的有机物和无机物保护下, 使细菌菌体更好地适应环境, 从而增强对外源有毒物质的抵抗机制^[82], 主要包括膜渗透屏障作用和细菌群体感应效应 (QS)^[83]。

重金属和抗生素可诱导某些致病细菌产生生物被膜, 这是临床顽固性细菌不易治疗的主要原因之一, 因此病原细菌生物被膜被认为是医学和健康领域的一大隐患。SAKIMURA 等^[84] 研究发现, 表皮葡萄球菌 (*Staphylococcus epidermidis*) 在与不锈钢 (含有铬、镍重金属) 接触后会形成生物被膜, 使其对万古霉素形成抗性, 且其抗性在生物被膜形成的 4~8 h 内达到最强。GAIDHANI 等^[85] 研究发现, 对 4 种抗生素 (庆大霉素、妥布霉素、多黏菌素 B、利福平) 和 2 种重金属盐 (AgNO_3 、 HgCl_2) 敏感的溶血不动杆菌 (*Acinetobacter haemolyticus*), 在诱导其形成生物被膜后, 就对它们产生了抗性, 且随生物被膜的增长, 抗性越强。此外, 细菌对抗生素和重金属

的抗性还与其生物被膜形成的时期有关。HALL 等^[86] 研究发现, 铜绿假单胞菌由浮游细胞进入静止期时, 其生物被膜中的 *ndvB* 基因受 RpoS 因子的调控上调表达, 从而在增加细菌菌体膜密度的同时增强了其对外源有毒物质的抗性。不同来源的同种属病原细菌形成的生物被膜成分及抗性有很大差异。VITALE 等^[87] 通过比较分析人源性和动物源性的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 发现, 前者的生物被膜相关基因表达水平更高, 对青霉素类抗生素抗性也更强, 表明病原细菌生物被膜的产生已对人类临床疾病治疗造成了极大挑战。

2.5 4 种抗性机制的比较

细菌中协同抗性、交叉抗性、协同调控抗性和生物被膜抗性 4 种抗生素与重金属联合抗性机制均能使细菌同时对某些抗生素和重金属产生抗性, 但彼此间又有不同。协同抗性机制是在空间上将 ARGs 和 HRGs 耦合在同一个 DNA 位置上, 当细菌受相应抗生素或重金属刺激时, ARGs 和 HRGs 同时表达产生联合抗性。交叉抗性机制则是在生理水平上将细菌的抗生素和重金属抗性耦合, 主要以 ATP 水解能或离子电化学膜梯度为动力将有毒物质排出体外, 当抗生素和重金属同时作为底物时, 二者外排的共同通路被启动而产生联合抗性。协同调控抗性机制涉及细菌胞内复杂的信号转导和相关基因的转录、翻译调控过程, 从细菌整体上进行抗性协调。生物被膜抗性机制更注重对菌体自身的保护, 生物被膜的形成可以对环境中有毒物质起屏障作用, 使细菌菌体免受毒害。在实际中, 细菌的这 4 种联合抗性机制是相互交联、相互融合的。

3 研究展望

目前, 对 4 种抗生素与重金属联合抗性机制的研究还停留在分析抗性基因的种类、数量、传播速率和细菌群落结构的变化上, 在以后的研究中还需加强以下方面:

(1) MGEs 的归趋研究。许多抗性基因常与 MGEs 相关联, 而 MGEs 又是抗性基因在菌落间传播、扩散的关键因子, 它对环境与人类生活的潜在危害更大。因此, 开展 MGEs 在不同环境中迁移规律及环境归趋研究, 将为抗性基因的削减和环境生态健康的评估提供更有力的理论依据。

(2) 生物信息学的应用。环境中抗性基因无处不在, 许多未知的抗性基因仍有待人们去探索发现。根据目前已有的抗性基因数据库, 结合宏基因组测

序技术,可以采用生物信息学分析法去发现并解析更多抗性基因或抗性机制。如交叉抗性机制涉及很多膜泵蛋白,可通过生物信息学分析 DNA 序列或氨基酸序列同源性,并验证功能,不断发现新的抗性蛋白及抗性机制,从而提高人类对致病细菌抗性上的认知,加速新型抗菌药物的研发进程。

(3) 数学模型的应用。自然环境污染状况日趋复杂,除抗生素、重金属的单一或联合污染外,其他影响因素如光照、氧气、温度、pH、溶解氧、氮磷含量、菌群结构等也对抗性或抗性基因的形成、传播起着重要作用。建立并应用数学模型研究环境中细菌在复杂的环境因子影响下,抗生素和重金属联合污染的抗性响应形式及其机制,可以将菌体所含 MG-Es 的种类、拷贝数等参数化,从而更好地解释或推测联合抗性发生的原因。

参考文献:

- [1] ZOU X M, XIAO X Y, HE Y, et al. Hormetic effects of metal ions upon *V. fischeri* and the application of a new parameter for the quantitative assessment of hormesis[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 322: 454-460.
- [2] ZOU X M, LIN Z F, DENG Z Q, et al. Novel approach to predicting hormetic effects of antibiotic mixtures on *Vibrio fischeri*[J]. *Chemosphere*, 2013, 90(7): 2070-2076.
- [3] 邓雅雯, 晏彩霞, 裴明华, 等. 生物炭对抗生素的吸附/解吸研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2020, 42(3): 376-384.
- [4] 刘星, 刘晓文, 吴颖欣, 等. 农用地重金属污染植物提取修复技术研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2020, 42(4): 507-513.
- [5] 张俊亚, 魏源送, 陈梅雪, 等. 畜禽粪便生物处理与土地利用全过程中抗生素和重金属抗性基因的赋存与转归特征研究进展[J]. *环境科学学报*, 2015, 35(4): 935-946.
- [6] KNAPP C W, MCCLUSKEY S M, SINGH B K, et al. Antibiotic resistance gene abundances correlate with metal and geochemical conditions in archived Scottish soils[J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27300.
- [7] ALONSO A, SANCHEZ P, MARTINERZ J. *Stenotrophomonas maltophilia* D457R contains a cluster of genes from Gram-positive bacteria involved in antibiotic and heavy metal resistance[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2000, 44(7): 1778-1782.
- [8] KRISHNA M P, VARGHESE R, HATHA M A A. Heavy metal tolerance and multiple drug resistance of heterotrophic bacterial isolates from metal contaminated soil[J]. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences*, 2012, 30(1): 58-64.
- [9] ZHAO W X, WANG B, GANG Y. Antibiotic resistance genes in China: occurrence, risk, and correlation among different parameters[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(22): 21467-21482.
- [10] FROST L S, LEPLAE R, SUMMERS A O, et al. Mobile genetic elements: the agents of open source evolution[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, 3: 722-732.
- [11] LAU S Y, ZGURSKAYA H I. Cell division defects in *Escherichia coli* deficient in the multidrug efflux transporter AcrEF-TolC[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(22): 7815-7825.
- [12] ENNE V I, BENNETT P M, LIVERMORE D M, et al. Enhancement of host fitness by the *sul2*-coding plasmid p9123 in the absence of selective pressure[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004, 53(6): 958-963.
- [13] AUSTIN C B, WRIGHT M S, STEPANAUSKAS R, et al. Co-selection of antibiotic and metal resistance[J]. *Trends in Microbiology*, 2006, 14(4): 176-182.
- [14] CHEN J W, LI J J, ZHANG H, et al. Bacterial heavy-metal and antibiotic resistance genes in a copper tailing dam area in northern China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1916.
- [15] DAVIES J, DAVIES D. Origins and evolution of antibiotic resistance[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2010, 74(3): 417-433.
- [16] BUTT A, KHAN A. Antibiotics resistance of bacterial biofilms[J]. *Middle East Journal of Business*, 2015, 10(4): 38-45.
- [17] FORSBERG K J, REYES A, WANG B, et al. The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens[J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1107-1111.
- [18] FIERER N, LEFF J W, ADAMDS B J, et al. Cross-biome meta-genomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, 109(52): 21390-21395.
- [19] VOICA D M, BARTHA L, BANCUI H L, et al. Heavy metal resistance in halophilic *Bacteria* and *Archaea* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2016, 363(14): 1-9.
- [20] PAL C, BENGTSSON P J, KRISTIANSSON E, et al. Co-occurrence of resistance genes to antibiotics, biocides and metals reveals novel insights into their co-selection potential[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 964.
- [21] POULAIN A J, ARIS BROSOUS, BLAIS J M, et al. Microbial DNA records historical delivery of anthropogenic mercury[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(12): 2541-2550.
- [22] STEPANAUSKAS R, GLENN T C, JAGOE C H, et al. Co-selection for microbial resistance to metals and antibiotics in freshwater microcosms [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(9): 1510-1514.
- [23] ARZNLOU M, CHAI W C, VENTER H. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria[J]. *Essays in Biochemistry*, 2017, 61(1): 49-59.
- [24] ANDERSSON D I, HUGHES D. Selection and transmission of antibiotic-resistant bacteria[J]. *American Society for Microbiology*, 2017, 5(4): 1-11.
- [25] ZHANG J Y, YANG M, ZHONG H, et al. Deciphering the factors influencing the discrepant fate of antibiotic resistance

- genes in sludge and water phases during municipal wastewater treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 310-319.
- [26] AGGA G E, SCOTT H M, AMACHAWADI R G, et al. Effects of chlortetracycline and copper supplementation on antimicrobial resistance of fecal *Escherichia coli* from weaned pigs[J]. *Preventive Veterinary Medicine*, 2014, 114(3/4): 231-246.
- [27] FANG H, WANG H, CAI L, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and bacterial pathogens in long-term manured greenhouse soils as revealed by meta-genomic survey[J]. *Environment Science and Technology*, 2015, 49(2): 1095-1104.
- [28] POPOWSKA M, RZECZYCKA M, MIERNIK A, et al. Influence of soil use on prevalence of tetracycline, streptomycin, and erythromycin resistance and associated resistance genes [J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, 56(3): 1434-1443.
- [29] KEITH P. At the nexus of antibiotics and metals; the impact of Cu and Zn on antibiotic activity and resistance[J]. *Trends in Microbiology*, 2017, 25(10): 820-832.
- [30] SUN C X, LI W, CHEN Z, et al. Responses of antibiotics, antibiotic resistance genes, and mobile genetic elements in sewage sludge to thermal hydrolysis pre-treatment and various anaerobic digestion conditions [J]. *Environment International*, 2019, 133: 105156.
- [31] QIAO M, CHEN W D, SU J Q, et al. Fate of tetracyclines in swine manure of three selected swine farms in China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(6): 1047-1052.
- [32] LIMA N C B, TANMOY A M, WESTEEL E, et al. Analysis of isolates from Bangladesh highlights multiple ways to carry resistance genes in *Salmonella* Typhi[J]. *BMC Genomics*, 2019, 20: 530.
- [33] AMACHAWADI R G, SCOTT H M, ALVARADO C A, et al. Occurrence of the transferable copper resistance gene *terB* among fecal enterococci of U.S. feedlot cattle fed copper-supplemented diets[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(14): 4369-4375.
- [34] FANG L X, LI X P, LI L, et al. Co-spread of metal and antibiotic resistance within ST3-IncHI2 plasmids from *E. coli* isolates of food-producing animals[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 25312.
- [35] MCLINTOSH D, CUNNINGHAM M, JI B, et al. Transferable, multiple antibiotic and mercury resistance in Atlantic Canadian isolates of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* is associated with carriage of an IncA/C plasmid similar to the *Salmonella enterica* plasmid pSN254[J]. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, 61(6): 1221-1228.
- [36] LIU K, SUN M M, YE M, et al. Co-existence and association between heavy metals, tetracycline and corresponding resistance genes in vermicomposts originating from different substrates[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 244: 28-37.
- [37] BLAIR J M A, RICHMOND G E, PIDDOCK L J V. Multi-drug efflux pumps in Gram-negative bacteria and their role in antibiotic resistance[J]. *Future Microbiology*, 2014, 9(10): 1165-1177.
- [38] CHITSSA M, BROWN M H. The role played by drug efflux pumps in bacterial multidrug resistance[J]. *Essays in Biochemistry*, 2017, 61(1): 127-139.
- [39] ENG T, DEMLING P, HERBERT R A, et al. Restoration of biofuel production levels and increased tolerance under ionic liquid stress is enabled by a mutation in the essential *Escherichia coli* gene *cydC*[J]. *Microbial Cell Factories*, 2018, 17(1): 159.
- [40] POELARENDIS G J, MAZURKIEWICZ P, KONINGS W N. Multidrug transporters and antibiotic resistance in *Lactococcus lactis*[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2002, 1555(1/2/3): 1-7.
- [41] AGBOH K, LAU C H F, KHOO Y S K, et al. Powering the ABC multidrug exporter LmrA: how nucleotides embrace the ion-motive force[J]. *Science Advances*, 2018, 4: eaas9365.
- [42] OKADA U, YAMASHITA E, NEUBERGER A, et al. Crystal structure of tripartite-type ABC transporter MacB from *Acinetobacter baumannii* [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 1336.
- [43] ALVARADO M, MARTIN GALIANO A J, FERRANDIZ M J, et al. Upregulation of the PatAB transporter confers fluoroquinolone resistance to *Streptococcus pseudopneumoniae*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2074.
- [44] POOLE R K, HATCH L, CLEETER M W J, et al. Cytochrome *bd* biosynthesis in *Escherichia coli*; the sequences of the *cydC* and *cydD* genes suggest that they encode the components of an ABC membrane transporter[J]. *Molecular Microbiology*, 1993, 10(2): 421-430.
- [45] POOLE R K, COZENS A G, SHEPHERD M. The CydDC family of transporters[J]. *Research in Microbiology*, 2019, 170(8): 407-416.
- [46] MEHMOOD S, CORRADI V, CHOUDHURY H G, et al. Structural and functional basis for lipid synergy on the activity of the antibacterial peptide ABC transporter McjD[J]. *The Journal of Biology Chemistry*, 2016, 291(41): 21656-21668.
- [47] FURUTA T, SATO Y, SAKURAI M. Structural dynamics of the heterodimeric ABC transporter TM287/288 induced by ATP and substrate binding[J]. *Biochemistry*, 2016, 55(48): 6730-6738.
- [48] LOCHER K P, BORTHS E. ABC transporter architecture and mechanism; implications from the crystal structures of BtuCD and BtuF[J]. *FEBS Letters*, 2004, 564: 264-268.
- [49] YAMASAKI S, NAGASAWA S, HAYASHI M, et al. AcrA dependency of the AcrD efflux pump in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium[J]. *The Journal of Antibiotics*, 2011, 64(6): 433-437.
- [50] PLETZER D, WEINGART H. Characterization of AcrD, a

- Resistance-Nodulation-Cell Division-type multidrug efflux pump from the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* [J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 13.
- [51] CAMPOS J, CRISTINO L, PEIXE L, et al. MCR-1 in multi-drug-resistant and copper-tolerant clinically relevant *Salmonella* 1,4, [5], 12:i:- and S. Rissen clones in Portugal, 2011 to 2015 [J]. Eurosurveillance, 2016, 21(26): 30270.
- [52] HORIYAMA T, NISHINO K. AcrB, AcrD, and MdtABC multi-drug efflux systems are involved in enterobactin export in *Escherichia coli* [J]. PLoS One, 2014, 9(9): e108642.
- [53] PLETZER D, WEINGART H. Characterization and regulation of the Resistance-Nodulation-Cell Division-type multidrug efflux pumps MdtABC and MdtUVW from the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* [J]. BMC Microbiology, 2014, 14: 185.
- [54] SONG S, LEE B, YEOM J H, et al. MdsABC-mediated pathway for pathogenicity in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium [J]. Infection and Immunity, 2015, 83(11): 4266-4276.
- [55] MASUDA N, SAKAGAWA E, OHYA S, et al. Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2000, 44(12): 3322-3327.
- [56] BALASKA S, MYRIANTHOPOULOS V, TSELJKA M, et al. NmeA, a novel efflux transporter specific for nucleobases and nucleosides, contributes to metal resistance in *Aspergillus nidulans* [J]. Molecular Microbiology, 2017, 105(3): 426-439.
- [57] ASHIMOTO K, OGAWA W, NISHIOKA T, et al. Functionally cloned *pdrM* from *Streptococcus pneumoniae* encodes a Na⁺ coupled multidrug efflux pump [J]. PLoS One, 2013, 8(3): e59525.
- [58] WU H H, SYMERSKY J, LU M. Structure of an engineered multidrug transporter MdfA reveals the molecular basis for substrate recognition [J]. Communication Biology, 2019, 2: 210.
- [59] ROTH A, GOVAERTS C. LmrP from *Lactococcus lactis*; a tractable model to understand secondary multidrug transport in MFS [J]. Research in Microbiology, 2018, 169(7/8): 468-477.
- [60] ZARATE S, MORALES P, SWIDEREK K, et al. A molecular modeling approach to identify novel inhibitors of the major facilitator superfamily of efflux pump transporters [J]. Antibiotics, 2019, 8(1): 25.
- [61] ZIMMERMANN S, STROBEL M K, BOHNERT J A, et al. Clinically approved drugs inhibit the *Staphylococcus aureus* multidrug NorA efflux pump and reduce biofilm formation [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2762.
- [62] GUELFO J R, ROJAS R A, MATIC I, et al. A MATE-family efflux pump rescues the *Escherichia coli* 8-oxoguanine-repair-deficient mutator phenotype and protects against H₂O₂ killing [J]. PLoS Genetics, 2010, 6(5): e1000931.
- [63] VINUE L, HOOPER D C, JACOBY G A. Chromosomal mutations that accompany *qnr* in clinical isolates of *Escherichia coli* [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2018, 51(3): 479-483.
- [64] MONAHAN B J, FRASER J A, HYNES M J. Isolation and characterization of two ammonium permease genes, *meaA* and *mepA*, from *Aspergillus nidulans* [J]. Eukaryotical Cell, 2002, 1(1): 85-94.
- [65] TOCCI N, LANNELLI F, BIDOSSI A, et al. Functional analysis of pneumococcal drug efflux pumps associates the MATE DinF transporter with quinolone susceptibility [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2013, 57(1): 248-253.
- [66] DOUGLAS A H, JOHN M G, JEFF A K, et al. Guanidine riboswitch-regulated efflux transporters protect bacteria against ionic liquid toxicity [J]. Journal of Bacteriology, 2019, 201(13): 1-14.
- [67] LENINGER M, HER A S, TRASETH N J. Inducing conformational preference of the membrane protein transporter EmrE through conservative mutations [J]. eLife, 2019, 8: e48909.
- [68] WASSENAAR T M, USSERY D W, INGMER H. The *qacC* gene has recently spread between rolling circle plasmids of *Staphylococcus*, indicative of a novel gene transfer mechanism [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1528.
- [69] BAY D C, TURNER R J. Efflux-mediated antimicrobial resistance in bacteria [M]. Cham: Springer, 2016.
- [70] HASSAN K A, JACKSON S M, PENESYAN A, et al. Transcriptomic and biochemical analyses identify a family of chlorhexidine efflux proteins [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(50): 20254-20259.
- [71] HASSAN K A, LIU Q, ELBOURNE L D H, et al. Pacing across the membrane: the novel PACE family of efflux pumps is widespread in Gram-negative pathogens [J]. Research in Microbiology, 2018, 169(7/8): 450-454.
- [72] HASSAN K A, LIU Q, HENDERSON P J F, et al. Homologs of the *Acinetobacter baumannii* AceI transporter represent a new family of bacterial multidrug efflux systems [J]. mBio, 2015, 6(1): e01982-14.
- [73] HASSAN K, ELBOURNE L D H, LI L P, et al. An ace up their sleeve: a transcriptomic approach exposes the AceI efflux protein of *Acinetobacter baumannii* and reveals the drug efflux potential hidden in many microbial pathogens [J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 333.
- [74] CARTER E L, JAGER L, GARDNER L, et al. *Escherichia coli* *abg* genes enable uptake and cleavage of the folate catabolite p-aminobenzoyl-glutamate [J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(9): 3329-3334.
- [75] DELMAR J A, YU E W. The AbgT family: a novel class of antimetabolite transporters [J]. Protein Science, 2016, 25(2): 322-337.

(下转第 1076 页)