

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.03.007

污水厂再生水中耐氯大肠杆菌筛查及细菌耐药性分析

卢汉清¹, 张 铮², 郑 琳², 只 帅^{2,3}, 滕良方¹, 张 莺¹

(1. 宁波市城市排水有限公司, 浙江 宁波 315192; 2. 宁波大学 医学院附属医院, 浙江 宁波 315020; 3. 宁波大学 医学院, 浙江 宁波 315211)

摘 要: 为研究再生水回用过程中的生物安全风险,对两座城镇污水处理厂再生水样品中来源微生物污染、耐氯大肠杆菌分布及细菌耐药性情况进行调查分析。结果显示,85.7%的再生水样品存在人源微生物污染风险;再生水中共分离到8株耐氯大肠杆菌,占所分离大肠杆菌的20%,为我国首次报道该菌存在,该菌的出现对水处理过程中微生物的有效消杀提出了挑战;50%的大肠杆菌至少耐受一种抗生素,10%耐受至少3种抗生素,3株大肠杆菌呈ESBL阳性,说明再生水具有传播耐药性细菌风险。因此,污水处理厂应优化处理工艺,提高对耐氯菌的消杀水平,并通过多部门联合治理以控制耐药菌传播,提高再生水的生物安全性。

关键词: 污水处理厂; 再生水; 耐氯大肠杆菌; 耐药性

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2022)03-0043-07

Isolation of Chlorine-resistant *Escherichia coli* and Bacterial Antibiotic Resistance Surveillance from Reclaimed Wastewater of Municipal Wastewater Treatment Plants

LU Han-qing¹, ZHANG Zheng², ZHENG Lin², ZHI Shuai^{2,3}, TENG Liang-fang¹,
ZHANG Ying¹

(1. Ningbo Municipal Sewerage Co. Ltd., Ningbo 315192, China; 2. The Affiliated Hospital of Medical School, Ningbo University, Ningbo 315020, China; 3. School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: To evaluate the microbial risk associated with wastewater reuse, reclaimed wastewater samples from two municipal wastewater treatment plants were collected to study their human fecal pollution risk and distribution of isolated chlorine-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*), and determine their antibiotic resistance. The results showed that 85.7% of the reclaimed wastewater samples had potential human fecal pollution; eight chlorine-resistant *E. coli* were identified constituting 20% of all *E. coli*, which was the first report of this strain in China posing great challenge to the disinfection efficiency in wastewater treatment process; 50% of the isolated *E. coli* strains were resistant to a least one of the 21 antibiotics tested with only 10% resistant to more than three antibiotics and three ESBL producing *E. coli* were identified suggesting that reclaimed wastewater might act as a route for antibiotic resistance dissemination. The wastewater treatment plants should adopt multiple approaches to improve their

基金项目: 宁波市自然科学基金资助项目(202003N4114)

通信作者: 只帅 E-mail: zhishuai@nbu.edu.cn

disinfections efficiency to deal with the challenges from chlorine-resistant microbes and work with related parties to control the spread of bacteria antibiotic resistance to protect the microbial safety of reclaimed wastewater.

Key words: wastewater treatment plant; reclaimed wastewater; chlorine-resistant *E. coli*; antibiotic resistance

水不仅是人类生存的基本要素,还与生命健康、社会可持续发展、国家安全息息相关。随着人类对水资源的需求日趋增加,淡水资源短缺已成为世界各国面临的重大挑战。据统计,全球有80多个国家水资源不足^[1],而随着全球气候变化及水污染问题不断加剧,水资源紧张将愈发严重。世界卫生组织的数据显示,到2025年世界将有一半的人口生活在缺水条件下^[2],因此寻找可替代水资源迫在眉睫。

污水再生回用是缓解水资源短缺的有效途径,目前再生水已被用于城市景观、农田灌溉、地下水回灌、工业冷却水、洗车等^[3]。然而再生水中可能含有多种病原微生物(如病毒、细菌、寄生虫等),如研究发现处理后的污水中含有多种致病微生物,包括李斯特菌^[4]、肝炎病毒(hepatitis A和E)^[5]、轮状病毒^[6]、肠道病毒^[7]、腺病毒^[8]、军团菌^[9]、大肠杆菌O157^[10]、沙门氏菌^[10]、隐孢子虫^[11]、贾第鞭毛虫^[11]等,假若应用不当可能导致介水传染病暴发,因此保障再生水的生物安全性至关重要。目前,主要通过测定再生水中粪大肠菌群及大肠杆菌含量对再生水的微生物污染程度进行评价。然而大肠菌群为人和动物肠道常见菌,多项研究发现在自然环境中也存在大肠杆菌,因此仅检测大肠菌群不能准确评估人源微生物污染程度^[12]。近年来,多种人源微生物污染分子标记被发现并应用于微生物污染评估及溯源,这些分子标记包括HF183和HumM2,它们已被应用于污水厂出水的生物安全性评估中^[13]。

再生水生产工艺包含多种微生物去除手段,其中物理手段包括膜过滤、紫外线,化学手段主要包括加氯消毒及臭氧消毒^[14]。氯消毒方式应用较为广泛,它主要利用次氯酸(HClO)和二氧化氯(ClO₂)的氧化特性,破坏微生物体内的蛋白质、DNA和RNA等,达到杀菌效果。Zhi等人的前期研究中发现污水中存在高耐氯菌,这类菌株还携带耐热基因,具有很强的耐热性,同时携带特异性DNA标记

uspC-IS30-flhDC^[15-16]。这些耐氯菌株的出现将降低氯消毒的杀菌效果,威胁再生水的生物安全性。

再生水中细菌耐药性问题也是目前关注热点。污水中含有大量的微生物,为基因水平转移(HGT)提供了良好环境^[17]。通过HGT,抗性基因可传递到某些致病菌中,反之毒力基因也可传递到抗性菌中,促进了抗性致病菌的出现。研究发现,氯消毒可提高污水所含抗生素基因含量^[18]。这些都对再生水的微生物安全造成巨大挑战,若处理不当则可能成为耐药菌传播的源头。为此,以宁波市两家污水处理厂的再生水为例,调查其进水及再生水中是否存在耐氯大肠杆菌,并测定再生水中大肠杆菌的耐药性,了解细菌耐药情况。

1 材料与方法

1.1 水样来源及处理工艺

选取宁波市两座污水处理厂(A厂和B厂),采集进水及再生水水样。两厂进水主要为生活污水,A厂采用高效沉淀池+滤布滤池工艺,经紫外消毒后回用,B厂采用MBR+D型滤池工艺,经紫外消毒后回用。

1.2 菌株分离

在A厂和B厂分别连续1周每日采集进水及再生水24 h混合样品,并将样品放在4℃冰盒中,迅速运回实验室。使用抽滤装置,将500 mL再生水通过0.45 μm滤膜,将滤膜放在MFC培养基上,在44℃下过夜培养。选取疑似大肠杆菌菌落,接种到EMB培养基上再次选择培养,得到疑似大肠杆菌。使用Vitek 2对疑似大肠杆菌进行生化鉴定,qPCR扩增*uidA*基因进行分子鉴定,最终得到大肠杆菌菌株。qPCR检测*uidA*基因反应体系为20 μL,包括5 μL DNA样本,10 μL 5G qPCR Premix (Toroivd),每个引物400 nmol/L,探针100 nmol/L,引物探针序列如表1所示。qPCR反应条件:95℃反应120 s,95℃反应10 s,60℃反应20 s,共45个循环。

表 1 PCR引物序列

Tab.1 Primer and their sequences used in this study

基因	引物/探针	引物与探针序列(5'-3')
HF183	HF183-F	ATCATGAGTTCACATGTCCG
	HF183-R	CGTAGGAGTTTGGACCGTGT
	HF183-P	FAM-CTGAGAGGAAGGTCCCCACAT TGGA-TAMARA
uspC-IS30- flhDC	ZIS-F	CAGACCGAGAAAGACACTGAA
	ZIS-R	TGTACTGCATTCCCCGTATT
uidA	uidA-F	CGCAAGGTGCACGGGAATA
	uidA-R	CAGGCACAGCACATCAAAGAGA
	uidA-P	FAM-ACCCGACGCGTCCGATCA CCT-TAMARA

1.3 再生水中人源微生物污染检测

使用抽滤装置,将 500 mL 再生水通过 0.45 μm 滤膜,通过 ALFA-SEQ Advanced Water DNA Kit 试剂盒(美格基因)提取滤膜上模板 DNA。通过 qPCR 检测人源微生物污染分子标记 HF183^[19]。qPCR 反应体系为 20 μL,包括 5 μL DNA 样本,10 μL 5G qPCR Premix (Toroivd),每个引物 400 nmol/L,探针 100 nmol/L,引物探针序列见表 1。qPCR 反应条件:95 ℃反应 120 s,95 ℃反应 10 s,60 ℃反应 20 s,共 45 个循环。

1.4 qPCR 鉴定耐氯菌株

使用煮沸法制备大肠杆菌 DNA 模板。使用美格基因 ALFA-SEQ Advanced Water DNA Kit 试剂盒提取进水 DNA 模板。耐氯菌检测方法来自已发表研究^[15],具体方法如下:qPCR 反应体系为 20 μL,包括 5 μL DNA 样本,10 μL SYBR Green qPCR Master

Mix (Toroivd),每个引物 900 nmol/L,引物序列见表 1,加 Nuclease-free water (全式金)至 20 μL。qPCR 反应条件:95 ℃反应 120 s,95 ℃反应 10 s,60 ℃反应 20 s,共 45 个循环。

1.5 细菌耐药性测定

使用 Vitek 2 测定 40 株大肠杆菌的耐药性,包括超广谱 β-内酰胺酶(ESBL)、阿米卡星、氨苄西林、氨曲南、头孢唑林、头孢吡肟、头孢替坦、头孢他啶、头孢曲松、环丙沙星、庆大霉素等 21 种抗生素。首先将大肠菌株在血平板培养基上 37 ℃过夜培养,使用棉签将菌落加入生理盐水试管中,配制菌悬液(McFarland 浊度=1),最后将 Vitek 2 革兰氏阴性细菌药敏卡及菌悬液装入 Vitek 2,进行药敏性测定。

1.6 主要仪器

超净工作台(智城 ZHJH-C1209B)、生物安全柜(TELSTAR Bio II Advance Plus 4)、高压灭菌锅(施都凯 IG-54)、隔水式培养箱(上海一恒 GHP-9610N)、移液器(Eppendorf 公司)、Vitek 2(梅里埃公司)、qPCR 仪(LightCycler 480 II)和高速离心机(Eppendorf 公司)。

2 结果

2.1 再生水厂日常检测指标

为保障再生水回用安全,我国已出台相关标准,对再生水用于农田灌溉、景观环境、工业及城市杂用(如冲厕、消防、车辆冲洗等)作了规定。A、B 两座污水处理厂所产再生水的常规水质指标如表 2 所示,均达到了《城市污水再生利用 景观环境用水水质》(GB/T 18921—2019)要求。

表 2 两座污水处理厂的再生水水质

Tab.2 Reclaimed wastewater quality of two wastewater treatment plants

项目	COD/(mg·L ⁻¹)		BOD ₅ /(mg·L ⁻¹)		NH ₃ -N/(mg·L ⁻¹)		TN/(mg·L ⁻¹)	
	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂
平均值	16.2	15.9	2.14	2.00	0.16	0.13	9.35	10.69
最小值	15.0	15.0	2.00	2.00	0.02	0.03	3.36	6.38
最大值	34.0	28.0	8.40	2.00	2.00	0.52	13.30	14.40
项目	TP/(mg·L ⁻¹)		SS/(mg·L ⁻¹)		pH 值		粪大肠菌群/(个·L ⁻¹)	
	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂	A 厂	B 厂
平均值	0.20	0.20	5	5	6.80	6.97	12.3	<20
最小值	0.09	0.06	5	5	6.20	6.36	10.0	<20
最大值	0.30	0.30	6	5	7.30	7.30	104.0	<20

由表 2 可知,两厂所产再生水中的粪大肠菌群指标远小于农业灌溉用水、景观用水、工业用水的限值要求。因此从生物安全性角度,其不仅可用于

河道补给,还可拓展应用于农业、工业及景观用水。然而《城市污水再生利用 城市杂用水水质》中要求大肠杆菌不能检出,因此目前两厂所产再生水不能

直接用于冲厕、车辆冲洗、城市绿化、道路清扫、消防、建筑施工等城市杂用。

2.2 进出水人源微生物污染检出率

经测定,所有进水样品均检出人源微生物污染 HF183 分子标记,即检出率为 100%。14 个再生水样品中共有 12 个检出人源微生物污染 HF183 分子标记,即检出率为 85.7%,其中 A 厂检出率为 100%,B 厂检出率为 71.4%,表明两厂再生水中存在人源微生物污染可能性。

2.3 再生水厂进出水耐氯菌的检出率

14 个污水处理厂的进水水样中共有 7 份样品检出耐氯大肠杆菌 *uspC-IS30-flhDC* 分子标记,检出率为 50%,其中 A 厂的检出率为 42.9%(3/7),B 厂的检出率为 57.1%(4/7)。14 份再生水样品中共有 2 份检测出含有耐氯大肠杆菌 *uspC-IS30-flhDC* 分子标记,检出率为 14.3%,其中 A 厂和 B 厂的检出率均为 14.3%。

A 厂 7 份再生水样品中仅有 3 份样品有菌落生长,但菌落特征显示全部为非粪大肠菌群菌落。B 厂 7 份样品全部长出粪大肠菌群菌落,通过分离鉴定共获得 40 株大肠杆菌,其中耐氯大肠杆菌 8 株。耐氯菌株来自 6 份再生水样品,因此再生水耐氯大肠杆菌总检出率为 42.9%(6/14),6 份样品全部来自 B 厂,B 厂的耐氯大肠杆菌总检出率为 85.7%(6/7)。该结果表明,A 厂所产再生水具有较高的生物安全性。然而在采样期间 B 厂加氯设备未运行,仅使用紫外一种消毒方式,工艺流程的差异可能导致了 A 厂所产再生水水质优于 B 厂,未能从 A 厂再生水样品中分离到大肠杆菌。

两厂 14 份再生水样品 DNA 中仅有 2 份含耐氯大肠杆菌 *uspC-IS30-flhDC* 分子标记,然而,通过对相同 14 份再生水样品过滤膜并在 MFC 培养基选择性培养粪大肠菌群后,共从 6 份样品中分离得到耐氯大肠杆菌。导致出现上述差异的原因可能是在对样品进行选择性培养后,大肠杆菌数量大量增加,因此分离得到耐氯大肠杆菌的概率增大。该结果提示可通过对样品前处理,增加选择性培养步骤,提高耐氯菌的分离率。

2.4 再生水中大肠杆菌耐药性

本研究所分离 40 株大肠杆菌对氨苄西林的耐药率最高为 40%,其次为复方磺胺(20%)、环丙沙星(15%)、ESBL(7.5%)、阿莫西林/克拉维酸(7.5%)、

头孢曲松(7.5%)、头孢西丁(5%)、氨曲南(5%)、左旋氧氟沙星(5%)、庆大霉素(2.5%)、呋喃妥因(2.5%),见表 3。分离得到的大肠杆菌 50% 至少耐受 1 种抗生素,5 株菌耐受 2 种抗生素,耐受 4 种和 5 种抗生素的菌株各 1 株,耐受 8 种抗生素的菌株共 2 株。40 株大肠杆菌中的 8 株耐氯菌,仅有 2 株对氨苄西林耐受,1 株对复方磺胺耐受,其余 5 株对所有抗生素敏感。

表 3 再生水中大肠杆菌的药敏性

Tab.3 Antibiotic resistance of the *E. coli* strains from reclaimed wastewater

抗生素种类	抗生素名称	耐药菌株数
青霉素类	氨苄西林	16
β-内酰胺类/抑制剂	阿莫西林/克拉维酸	3
	替卡西林/克拉维酸	0
	哌拉西林/他唑巴坦	0
头孢菌素类	头孢吡肟	0
	头孢他啶	0
	头孢曲松	3
	头孢西丁	2
单环类	氨曲南	2
磺胺类	复方磺胺	8
耐药机制检测	超广谱 β-内酰胺酶	3
氨基糖苷类	阿米卡星	0
	庆大霉素	1
	妥布霉素	0
氟喹诺酮类	环丙沙星	6
	左旋氧氟沙星	2
四环素类	替加环素	0
	呋喃妥因	1
碳青霉烯类	厄他培南	0
	亚胺培南	0
	美洛培南	0

3 讨论

近年来,随着城市人口剧增和经济快速发展,全球水资源严重不足。与此同时,全球变暖导致的极端气候频发愈发加剧了水资源短缺。再生水作为缓解水危机的重要途径之一,不仅可用于工农业生产及市政杂用,在国外某些缺水地区甚至已尝试将再生水用作生活饮用水间接补充水源。然而再生水水源含有大量污染物,因此在其回用过程中不仅存在化学性危害风险,其所携带的病原微生物对人类的生物安全性风险也不容忽视。

研究发现,在 A 厂一些再生水样品中未能检测

到粪大肠菌群,然而这些样品均含有人源微生物污染标记物HF183,存在携带致病微生物风险,说明仅检测粪大肠菌群不能对再生水安全性进行准确评估。Harwood等人^[20]的研究也显示,仅使用个别肠道指示菌(如总大肠菌群、粪大肠菌群、粪肠球菌等)无法准确反映再生水中致病微生物情况。目前我国多项国家标准将检测粪大肠菌群作为再生水生物安全性评价唯一手段,急需引入其他检测方法,提高再生水生物安全评估技术水平。随着测序技术及生物信息学的发展,使用宏基因组技术对样品中所有微生物进行检测,在经济和技术层面的实施性已完全具备^[21]。宏基因组技术通过测定样品中全部核酸序列,可对样品中所有微生物的种类及丰度进行鉴定。因此可将宏基因组技术应用到再生水回用领域,实现对其生物安全性的全面精确评估。

为保障出水生物安全性,污水处理厂水质净化过程需包括消毒处理,加入氯消毒剂为最常用消毒手段。目前我国氯消毒剂使用量非常巨大,以北京市为例,其污水处理量达 $3 \times 10^6 \text{ m}^3/\text{d}$ 以上,按二氧化氯投加量为 10 mg/L 计算^[22],仅北京市每年就需要使用 $1 \times 10^4 \text{ t}$ 。那么在氯消毒剂的巨量使用所提供的强大进化选择压力下,是否会出现耐氯处理致病微生物?大量研究证明,当暴露于有害环境因素后,细菌基因组的高可塑性,使其可进化出抵御机制来保障自身正常生长繁殖,例如细菌的耐抗生素、耐重金属、耐热性等特性便可通过基因突变或获取外源抗性基因获得^[23]。因此大量的氯暴露,必然导致耐氯菌的出现。作者前期研究便发现一些大肠杆菌更适应在污水中生存,这些大肠杆菌对氯的抗性高达标准菌株的100倍^[15, 24-25],并携带一个特异性DNA标记 $uspC$ -IS30- $flhDC$ ^[24]。目前已在加拿大、瑞士、美国污水中发现该类耐氯大肠杆菌^[16]。本研究中,B厂7份样品耐氯大肠杆菌检出率达85.7%(6/7),说明本地污水系统中存在耐氯大肠杆菌,为首次在我国报道此菌,说明该菌已在全世界范围流行。该菌株的耐氯性和耐热性分别为普通菌株的100倍和100万倍^[24],更易逃过消毒处理,对水处理效率造成挑战。同时细菌耐氯性与其感染宿主的能力呈正相关^[26],因此该类菌可能更容易突破人体免疫防御系统,危害人类健康,危及再生水生物安全。

本研究并未从A厂分离到耐氯大肠杆菌。A厂使用氯消毒及紫外消毒两种消毒方式,而B厂在采样期间仅使用紫外消毒,因此B厂再生水中大肠杆菌含量相对较高,提高了分离到耐氯大肠杆菌的几率。尽管耐氯大肠杆菌可降低氯消毒效力,本研究显示A厂所使用的紫外线+氯消毒工艺仍可对其有效去除。多项研究证明,采用联合消毒工艺,如氯消毒+紫外消毒,可通过弥补各自工艺不足,提高对病毒、细菌芽孢、寄生虫的杀灭效果^[27-29]。因此为保障再生水生物安全性,建议联用多种消毒工艺,以提高消毒效果。

污水中含有大量微生物,是细菌耐药性传播的重要场所^[30]。研究发现,处理后污水排入环境后,可导致下游水体耐药基因浓度升高^[31]。因此再生水回用过程中,需关注其耐药基因携带情况,防止再生水成为耐药基因传播媒介。Blaak等人发现污水厂出水中69%大肠杆菌菌株对所测8种抗生素敏感^[32],而Craddock等发现某再生水系统出水中71.4%的菌株对所测24种抗生素敏感^[33]。本研究所分离大肠杆菌中50%对所有21种抗生素敏感,但仅有10%菌株耐受3种以上抗生素,因此宁波市再生水中细菌耐药性问题尚不突出。然而,本研究共分离到3株产ESBL大肠杆菌,ESBL可使菌株耐受多种 β -内酰胺类抗生素,包括第三代头孢菌素和单酰胺环类抗生素,且ESBL菌株常同时耐受其他类抗生素^[34]。产ESBL菌株目前在全世界流行性不断上升^[35],相关部门应当给予高度重视,加强对临床治疗及养殖中抗生素使用的监管,控制耐药菌产生和传播。同时再生水回用中也需关注此类菌株的存在情况,研究开发新型杀菌技术,降低其通过再生水传播感染人类风险。

4 结论

宁波两座污水处理厂所生产的再生水水质符合国家再生水回用河道标准,从再生水中共分离到8株耐氯大肠杆菌,在我国尚属首次报道。该菌的出现对水处理过程中微生物的有效消杀提出了挑战,水务部门需优化处理工艺,提高消毒水平。同时,分离到多株耐药大肠杆菌,其中包含耐ESBL菌株,它们的存在会威胁再生水回用的生物安全,相关部门应对细菌耐药性进行联合治理,从源头控制耐药菌的产生,从传播链控制耐药菌的扩散,以保障人类健康。

参考文献:

- [1] AHUJA S. Advances in Water Purification Techniques [M]. Amsterdam: Elsevier, 2019:17-39.
- [2] WHO. Drinking-water [OL]. (2019-06-14) [2021-11-03]. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
- [3] 陈卓,郝姝然,高强,等.《再生水利用效益评价指南》标准解读[J].中国给水排水,2021,37(18):1-7.
CHEN Zhuo, HAO Shuran, GAO Qiang, et al. Interpretation of an association standard of *Guideline for Benefit Evaluation of Reclaimed Water Use* [J]. China Water & Wastewater, 2021, 37(18): 1-7 (in Chinese).
- [4] PAILLARD D, DUBOIS V, THIEBAUT R, et al. Occurrence of *Listeria* spp. in effluents of French urban wastewater treatment plants [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 7562-7566.
- [5] MASCLAUX F G, HOTZ P, FRIEDLI D, et al. High occurrence of hepatitis E virus in samples from wastewater treatment plants in Switzerland and comparison with other enteric viruses [J]. Water Research, 2013, 47(14): 5101-5109.
- [6] OSUOLALE O, OKOH A. Incidence of human adenoviruses and hepatitis A virus in the final effluent of selected wastewater treatment plants in Eastern Cape Province, South Africa [J]. Virology Journal, 2015, 12: 98.
- [7] OSUOLALE O, OKOH A. Human enteric bacteria and viruses in five wastewater treatment plants in the Eastern Cape, South Africa [J]. Journal of Infection and Public Health, 2017, 10(5): 541-547.
- [8] ADEFISOYE M A, OKOH A I. Identification and antimicrobial resistance prevalence of pathogenic *Escherichia coli* strains from treated wastewater effluents in Eastern Cape, South Africa [J]. Microbiology, 2016, 5(1): 143-151.
- [9] CAICEDO C, ROSENWINKEL K H, EXNER M, et al. *Legionella* occurrence in municipal and industrial wastewater treatment plants and risks of reclaimed wastewater reuse: review [J]. Water Research, 2019, 149: 21-34.
- [10] BONETTA S, PIGNATA C, LORENZI E, et al. Detection of pathogenic *Campylobacter*, *E. coli* O157: H7 and *Salmonella* spp. in wastewater by PCR assay [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(15): 15302-15309.
- [11] DOMENECH E, AMOROS I, MORENO Y, et al. *Cryptosporidium* and *Giardia* safety margin increase in leafy green vegetables irrigated with treated wastewater [J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2018, 221(1): 112-119.
- [12] DEVANE M L, MORIARTY E, WEAVER L, et al. Fecal indicator bacteria from environmental sources; strategies for identification to improve water quality monitoring [J]. Water Research, 2020, 185: 116204.
- [13] BUNCE J T, ROBSON A, GRAHAM D W. Seasonal influences on the use of genetic markers as performance indicators for small wastewater treatment plants [J]. Science of the Total Environment, 2020, 739: 139928.
- [14] 陈梓豪,许萍.国外再生水饮用回用的案例分析与启示[J].中国给水排水,2021,37(14):13-22,31.
CHEN Zihao, XU Ping. Case analysis and enlightenment on potable reuse of reclaimed water abroad [J]. China Water & Wastewater, 2021, 37(14): 13-22, 31 (in Chinese).
- [15] ZHI S, BANTING G, LI Q, et al. Evidence of naturalized stress-tolerant strains of *Escherichia coli* in municipal wastewater treatment plants [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(18): 5505-5518.
- [16] ZHI S, BANTING G, STOTHARD P, et al. Evidence for the evolution, clonal expansion and global dissemination of water treatment-resistant naturalized strains of *Escherichia coli* in wastewater [J]. Water Research, 2019, 156: 208-222.
- [17] 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.
- [18] LIU S, QU H, YANG D, et al. Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant [J]. Water Research, 2018, 136: 131-136.
- [19] HAUGLAND R A, VARMA M, SIVAGANESAN M, et al. Evaluation of genetic markers from the 16S rRNA gene V2 region for use in quantitative detection of selected *Bacteroidales* species and human fecal waste by qPCR [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2010, 33(6): 348-357.
- [20] HARWOOD V J, LEVINE A D, SCOTT T M, et al. Validity of the indicator organism paradigm for pathogen

- reduction in reclaimed water and public health protection [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(6): 3163–3170.
- [21] HONG P Y, MANTILLA-CALDERON D, WANG C. Metagenomics as a tool to monitor reclaimed-water quality [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(16): 724–730.
- [22] 刘加强, 郇传民, 陈翠. 某城镇污水处理厂二氧化氯消毒的设计计算 [J]. 盐城工学院学报(自然科学版), 2016, 29(2): 45–48.
- LIU Jiaqiang, TAI Chuanmin, CHEN Cui. Design and calculation of chlorine dioxide disinfection in a wastewater treatment plant of a town [J]. Journal of Yancheng Institute of Technology (Natural Science Edition), 2016, 29(2): 45–48 (in Chinese).
- [23] 沈怡, 王海波, 胡春, 等. 污染物对饮用水管网中微生物再生的影响 [J]. 中国给水排水, 2020, 36(21): 15–20.
- SHEN Yi, WANG Haibo, HU Chun, *et al.* Effect of micro-pollutants on bacterial regrowth in drinking water pipelines [J]. China Water & Wastewater, 2020, 36(21): 15–20 (in Chinese).
- [24] WANG Z, FANG Y, ZHI S, *et al.* The locus of heat resistance confers resistance to chlorine and other oxidizing chemicals in *Escherichia coli* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86 (4) : e02123–19.
- [25] ZHI S, BANTING G, RUECKER N J, *et al.* Stress resistance in naturalised waste water *E. coli* strains [J]. Journal of Environmental Engineering and Science, 2017, 12(2): 42–50.
- [26] NONTALEERAK B, DUANG-NKERN J, WONGSAROJ L, *et al.* Roles of RcsA, an AhpD family protein, in reactive chlorine stress resistance and virulence in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86 (20) : 1480–1489.
- [27] RATTANAKUL S, OGUMA K, TAKIZAWA S. Sequential and simultaneous applications of UV and chlorine for adenovirus inactivation [J]. Food and Environmental Virology, 2015, 7(3): 295–304.
- [28] LI G, HUO Z, WU Q, *et al.* Synergistic effect of combined UV-LED and chlorine treatment on *Bacillus subtilis* spore inactivation [J]. Science of the Total Environment, 2018, 639: 1233–1240.
- [29] MONTEMAYOR M, COSTAN A, LUCENA F, *et al.* The combined performance of UV light and chlorine during reclaimed water disinfection [J]. Water Science and Technology, 2008, 57(6): 935–940.
- [30] GUO J, LI J, CHEN H, *et al.* Metagenomic analysis reveals wastewater treatment plants as hotspots of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements [J]. Water Research, 2017, 123: 468–478.
- [31] BERGLUND B, FICK J, LINDGREN P E. Urban wastewater effluent increases antibiotic resistance gene concentrations in a receiving northern European river [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2015, 34(1): 192–196.
- [32] BLAAK H, LYNCH G, ITALIAANDER R, *et al.* Multidrug-resistant and extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Dutch surface water and wastewater [J]. PLOS One, 2015, 10(6): 1–16.
- [33] CRADDOCK H A, CHATTOPADHYAY S, RJOUB Y, *et al.* Antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. in greywater reuse systems and pond water used for agricultural irrigation in the West Bank, Palestinian territories [J]. Environmental Research, 2020, 188: 109777.
- [34] KAWAMURA K, NAGANO N, SUZUKI M, *et al.* ESBL-producing *Escherichia coli* and its rapid rise among healthy people [J]. Food Safety (Tokyo), 2017, 5(4): 122–150.
- [35] KARAIKOS I, GIAMARELLOU H. Carbapenem-sparing strategies for ESBL producers: when and how [J]. Antibiotics (Basel), 2020, 9(2): 61.

作者简介: 卢汉清(1965–), 男, 广西南宁人, 本科, 教授级高级工程师, 主要从事城镇供排水建设、运营管理和标准编制等工作。

E-mail: 1303438194@qq.com

收稿日期: 2021-11-22

修回日期: 2021-12-15

(编辑: 李德强)