

人体肠道菌群中抗生素耐药基因的水平转移研究

骆慧晓 张晓婷 汪庆* 杨光 李思敏 刘长振 齐丽英 李书唱 侯雅茹
(河北工程大学能源与环境工程学院, 河北省大气污染成因与影响重点实验室, 邯郸 056038)

摘要: 抗生素的广泛使用导致环境中出现了大量耐药菌, 其携带的耐药基因会通过水平转移在微生物间传播, 加重了耐药基因及耐药菌对环境的污染。由于肠道菌群多样性较高且包含多种抗生素耐药基因, 人体肠道逐渐成为抗生素耐药基因发生水平转移的适宜场所。抗生素的过度使用容易改变肠道微生物的组成, 影响宿主免疫功能, 导致定植抗性的丧失, 促使外源耐药菌在肠道定植, 对人体健康造成潜在风险。影响人体肠道中耐药基因组成的因素多种多样, 包括抗生素的使用, 食物, 饮水等。本文介绍了肠道菌群耐药基因的组成和传播, 总结了肠道菌群中抗生素耐药基因的研究方法, 并对未来研究重点进行了展望, 以增强对人体肠道抗生素耐药基因的认识, 并为减少或控制肠道中抗生素耐药性方法的开发提供新思路。

关键词: 抗生素耐药基因; 肠道菌群; 水平基因转移

中图分类号: R978 **文献标志码:** A

Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human intestinal flora

Luo Huixiao, Zhang Xiaoting, Wang Qing, Yang Guang, Li Simin,
Liu Changzhen, Qi Liying, Li Shuchang, and Hou Yaru

(College of Energy and Environmental Engineering, Hebei Key Laboratory of Air Pollution Cause and Impact,
Hebei University of Engineering, Handan 056038)

Abstract The widespread use of antibiotics has led to the emergence of a large number of drug-resistant bacteria in the environment, which carry resistance genes that are transmitted between microorganisms through horizontal transfer, increasing the pollution of the environment by drug-resistant genes and drug-resistant bacteria. The human gut is becoming a suitable site for horizontal transfer of antibiotic resistance genes due to the high diversity of the intestinal flora and the presence of multiple antibiotic resistance genes. Abuse of antibiotics tends to alter the composition of the gut microbiota, affecting host immune function, leading to loss of colonizing resistance and promoting colonization of the gut by exogenous resistant bacteria. A variety of factors influence the composition of resistance genes in the human gut, including antibiotic use, food, and drinking water. This paper describes the composition and propagation of antibiotic resistance genes in the intestinal flora, summarizes the methods used to study antibiotic resistance genes in the intestinal flora, provides an outlook on future research priorities to enhance the understanding of antibiotic resistance genes in the human intestine, and provides new ideas for the development of methods to reduce or control antibiotic resistance in the intestine.

收稿日期: 2022-02-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 42077393和No. 52070065); 国家重点研发项目计划课题(No. 2021YFC1910601); 河北省研究生创新资助项目(No. CXZZSS2022031); 邯郸市科技研发计划项目(No. 21422093287; No. 21422123280)

作者简介: 骆慧晓, 女, 生于1997年, 在读硕士研究生, 研究方向为环境微生物, E-mail: Luohuixiao66@163.com

*通信作者, E-mail: wangqing@hebeu.edu.cn

Key words Antibiotic resistance genes; Intestinal flora; Horizontal gene transfer

目前, 抗生素在临床、畜牧和水产养殖业的广泛使用, 导致食品、水、空气等多种环境中检测到耐药菌, 耐药菌的出现增加了感染性疾病的治疗难度, 给疾病的预防和控制带来了新的挑战^[1-4]。肠道菌群与人类健康密切相关, 抗生素的过度使用容易破坏肠道微生态的结构及功能, 降低肠道菌群多样性及定植抗力, 致使肠道中新耐药菌的出现以及土著耐药菌大量繁殖^[5-6]。抗生素进入肠道后所形成的选择性压力不仅能够诱导肠道敏感菌株靶位发生突变, 从而产生耐药性, 还可以促使耐药基因通过可移动遗传元件在相同种属或不同种属细菌之间进行水平转移, 导致耐药基因在肠道环境中进行传播扩散^[5,7-9]。除抗生素类药物暴露诱导外, 以食物和水等介质的外源耐药基因的引入也是肠道耐药基因产生和传播的重要因素^[10-12]。含耐药菌的水或食物一旦进入人体将有可能定植于肠道, 破坏肠道菌群稳态, 对人体健康造成潜在风险^[13]。肠道作为耐药基因的储存库^[14], 肠道菌群种类丰富且菌群密度高, 人体肠道已成为耐药基因水平转移的适宜场所^[15-18]。本文介绍了人体肠道微生物组与相关疾病, 综述了外源耐药菌在肠道的定植和水平基因转移, 总结了人体肠道抗生素耐药基因的研究方法, 以增强对人体肠道抗生素耐药基因认识, 并为减少或控制人体肠道中抗生素耐药性提供借鉴。

1 人体肠道微生物和抗生素耐药性

1.1 人体肠道微生物与相关疾病

人类肠道微生物组约有100万亿个细菌, 分属数百个不同的物种, 可分为厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形杆菌门, 占细菌总数的90%以上^[19-20]。肠道菌群影响着宿主各种代谢和生理功能, 肠道菌群的丰富性和多样性亦在维持人体健康方面发挥着关键作用, 肠道菌群失调与多种疾病密切相关, 如胃肠道疾病、内分泌系统疾病、自身免疫性疾病等^[21-22]。Li等^[23]研究表明, 与健康儿童相比, 儿童肺结核患者肠道菌群多样性降低。肺结核患儿中普雷沃菌属、肠球菌属增加, 而瘤胃球菌属、双歧杆菌属和普拉

梭菌属等有益菌减少。炎症性肠病是慢性免疫介导的炎症性疾病^[24]。Frank等^[25]发现肠道菌群失调与炎症性肠病相关, 与健康人群相比, 炎症性肠病患者肠道内的拟杆菌门和厚壁菌门细菌丰度有所减少, 而肠杆菌科细菌丰度相对增加。肥胖作为当前主要健康问题之一, 其形成与肠道微生物密切相关^[26-27]。Le Chatelier等^[28]通过对比分析123名非肥胖丹麦人和169名肥胖丹麦人的肠道微生物组成, 发现相对于瘦人而言, 肥胖个体内卟啉单胞菌、弯曲杆菌、类杆菌、葡萄球菌、副杆菌和瘤胃球菌的比例较高, 而乳酸杆菌、双歧杆菌、粪杆菌、阿克曼菌、甲烷短杆菌和粪球菌的比例较低。过敏性疾病是免疫性相关疾病, 肠道菌群失调亦会影响过敏性疾病的发展。O'Connor等^[29]发现在儿童过敏症状开始时, 肠道菌群部分细菌丰度较低, 而金黄色葡萄球菌、普氏杆菌和双歧杆菌的丰度较高。自闭症是一种神经发育障碍, 其与肠道功能障碍及肠屏障功能损害有关。Finegold等^[30]分析自闭症的粪便微生物组发现, 与健康儿童相比, 自闭症儿童肠道菌群的变形杆菌门和拟杆菌门占比较高, 而厚壁菌门和放线菌门占比较低。肠道菌群的结构组成与地理位置、饮食、药物和个体遗传学有关。菌群的差异与地理位置具有相关性。据报道, 欧洲婴儿肠道菌群存在“地理梯度”, 北方地区的婴儿双歧杆菌和梭状芽胞杆菌丰度较高, 而南方地区婴儿肠道中乳杆菌和类杆菌丰度较高^[31]。母体中的肠道微生物可以在子宫内转移至胎儿体内^[2]。Jimenez等^[32]喂养怀孕小鼠带有基因标签的牛奶, 发现无菌剖腹产足月小鼠的胎粪中可分离到该标记菌株。饮食类型是影响婴儿肠道菌群组成的重要因素^[33]。研究表明, 婴儿肠道细菌的主要来源是母乳中的链球菌和葡萄球菌, 随着断奶和固体食物的引入, 肠道菌群的多样性增加, 拟杆菌和梭状芽胞杆菌的定植能力增强^[31,34-35]。抗生素对肠道菌群有长期影响^[36]。Jernberg等^[37]研究克林霉素治疗对肠道菌群的影响, 发现克林霉素治疗7 d后, 受试者拟杆菌属克隆多样性大幅降低。肠

道菌群在维持宿主生理稳态、促进免疫系统发育和调节宿主代谢方面发挥着关键作用,因此肠道微生物组的改变与人体健康和疾病密切相关。

1.2 肠道耐药菌和耐药基因

人体肠道菌群是抗生素耐药基因的重要储存库^[14]。Forslund等^[38]在来自7个国家共252份成人粪便样本中发现了68类抗生素中的50种耐药基因,平均每个样本有21种耐药基因。Hu等^[39]在来自中国、丹麦和西班牙162个人的数据集中检测到了1093个耐药基因。研究表明,杆菌肽类、万古霉素类和四环素类耐药基因广泛存在于人体肠道中,其中四环素类耐药基因*tet32*、*tet40*、*tetO*、*tetQ*和*tetW*在人体肠道中普遍检出且相对丰度较高^[38-39]。耐药菌以及耐药基因亦在幼儿肠道中检出^[40]。郝璐等^[41]采用PCR技术对新生儿粪便进行检测,结果表明新生儿粪便中存在四环素类耐药基因*tetB*、*tetM*、*tetQ*及大环内酯类耐药基因*ermB*和*ermF*。文雯等^[42]通过研究3~5岁儿童粪便样本发现,儿童肠道菌群中普遍存在四环素类耐药基因*tetB*、*tetQ*、*tetM*和*tetW*及大环内酯类耐药基因*ermB*和*ermF*。耐药菌和耐药基因不仅存在于成人肠道,也存在于幼儿肠道。

肠道耐药基因组成的影响因素多种多样。抗生素治疗容易降低肠道菌群的多样性,增加耐药基因的丰度^[43-44]。Gu等^[45]通过16S rRNA基因测序评价氟喹诺酮和β-内酰胺类抗生素对小鼠肠道菌群的短期影响,结果显示,4 d的抗生素暴露显著降低了肠道细菌的α和β多样性。Jakobsson等^[46]研究了克拉霉素和甲硝唑治疗的长期影响,发现治疗前粪便样本存在低丰度的耐药基因*ermB*,治疗后*ermB*耐药基因水平持续增加长达4年。文雯^[42]通过对比3个月内未使用抗生素儿童与1周内使用头孢类抗生素儿童的肠道菌群耐药基因组成,发现相较于未使用抗生素的儿童,1周内使用抗生素儿童粪便中携带较高丰度的β-内酰胺酶类抗生素耐药基因*bla_{TEM}*。地区差异也是肠道耐药基因组成的影响因素之一。Ghosh等^[47]通过比较不同国家人体肠道菌群的抗生素耐药性差异,发现与美国和丹麦人相比,南欧人(西班牙、法国和意大利)的抗生素耐药基因的丰度以及多样性显著高于

美国和丹麦人。人体肠道中耐药基因的多样性随着年龄的增长而增加。Lu等^[48]研究不同年龄阶段肠道内耐药基因的多样性,在学龄前儿童、学龄儿童、高中生和成人组中分别鉴定出25、37、58和72种耐药基因。饮食及生活方式对肠道耐药基因组的组成与多样性亦有一定的影响^[49]。研究发现,哈扎人和美洲印第安人以狩猎-采集为生的原始生活方式生存,与工业化生活相比,肠道耐药基因多样性更高^[50-51]。Ghosh等^[47]通过对比印度健康儿童与营养不良儿童的肠道菌群耐药基因组成,发现健康儿童与营养不良儿童的肠道菌群中均检测到四环素、头孢菌素、万古霉素耐药基因,而仅在营养不良儿童肠道菌群中检测到杆菌肽、链阳霉素A、磷胺霉素和磺胺类耐药基因。由此可知,肠道耐药基因的组成与药物、地区、年龄、生活方式等多种因素有关。

2 外源耐药菌在人体肠道的定植

由于生活环境不同,人体所接触的外界微生物多种多样,其中不乏耐药菌。肠道自身的抵抗机制能够抵御外来病原菌,防止细菌定植^[52-53]。稳定的肠道菌群能够抵制外源微生物的入侵,如肠杆菌产生的细菌素可以直接抑制肠出血性大肠埃希菌的繁殖^[54],双歧杆菌也可以通过酸化肠道环境的方式阻止病原大肠埃希菌的定植^[55]。而抗生素可通过改变细菌代谢产物和肠道微环境降低宿主的定植抗力,从而使外源耐药菌进入肠道定植^[56-57]。Melina^[58]研究发现抗生素通过改变正常肠道菌群的组成,使菌群屏障被破坏,外源菌艰难梭菌容易以芽孢的形式被摄入并繁殖,导致艰难梭菌在肠道中定植。Frazão等^[59]研究发现链霉素的短期治疗能够打破定植抗性,使大肠埃希菌定植于小鼠肠道菌群。Edlund等^[60]分析了口服头孢泊肟酯对健康受试者肠道菌群的影响,发现用药期间酵母菌和葡萄球菌定植于2名受试者肠道,艰难梭菌定植于5名受试者肠道,停药两周后仍有两名受试者肠道携带艰难梭菌。另有研究发现,克林霉素治疗7 d后,耐克林霉素的拟杆菌数量明显增加,经克林霉素治疗后长达2年仍可分离到耐药菌株^[61]。

外源耐药菌可通过食物链传播至肠道^[49,62]。研究表明在动物和零售肉类中发现*mcr-1*耐药基因,含

有*mcr-1*的质粒在大肠埃希菌菌株之间具有较高的体外转移率,因此含*mcr-1*基因的大肠埃希菌可能通过食物链传播到人体肠道细菌^[63]。Leicester等^[64]分析发现6名志愿者食用含有耐药菌的鸡肉后,万古霉素耐药基因从鸡源粪肠球菌转移至志愿者体内的粪肠球菌。水环境作为庞大的耐药基因储存库使得耐药基因能够以水环境为媒介传播至肠道。研究发现,水中产超广谱 β -内酰胺酶(ESBL)菌株可通过饮水进入肠道,当停止接触污染饮用水7 d后,仍能从小鼠粪便中检测到耐药菌^[65]。姜瀚集等^[66]通过建立耐药质粒在斑马鱼体内的接合转移模型,研究了耐药基因在斑马鱼体内的定植,发现了水环境中的耐药菌会随水体进入斑马鱼体内并在肠道内定植。外源耐药菌容易通过临床抗生素的使用、食物链、水体等方式进入人体肠道并在肠道内定植,导致耐药基因在肠道内广泛传播。

3 外源耐药菌在肠道的水平基因转移

3.1 转化

转化是受体细菌从周围环境中直接获得裸DNA片段的过程。研究发现已有超过80种细菌具有天然转化能力^[67],病原菌淋球菌、霍乱弧菌和肺炎链球菌等能够进行自然转化,并通过转化这一过程获得了耐药性^[68]。李万可兰等^[69]研究了葡萄球菌与大肠埃希菌间耐药性传递,结果表明葡萄球菌耐药质粒DNA,可以在体外转化感受态大肠埃希菌,使大肠埃希菌获得耐药性。外源耐药菌可以通过饮食进入肠道,并在宿主菌的帮助下在肠道菌群中定植和传播。Ding等^[70]通过小鼠实验研究发现了游离质粒RK2携带的氨苄西林耐药基因在小鼠肠道菌群中的转化和传播。由上可知,转化有助于肠道中抗生素耐药基因的传播。

3.2 转导

转导是通过噬菌体在细菌间传递基因的过程^[71]。人体肠道中含有大量噬菌体,抗生素治疗容易导致噬菌体中耐药基因片段增加^[71-72]。Modi等^[73]研究发现与对照组小鼠相比,环丙沙星或氨苄西林处理组小鼠的噬菌体中耐药基因丰度更高。噬菌体介导基因转移的传统研究手段是利用选择性培养基对转导子进行筛

选,可以直观表征转导结果。Fard等^[74]分离了3种噬菌体进行转导试验,结果发现,四环素耐药性由鹌鸡蛋肠球菌可转移至粪肠球菌;庆大霉素耐药性由粪肠球菌可转移至屎肠球菌、海氏肠球菌和酪黄肠球菌,试验表明噬菌体在肠球菌抗生素耐药性转移中发挥了一定作用。目前研究表明,噬菌体在抗生素耐药基因的转移中具有一定的作用,但与质粒、转座子等可移动元件相比,其贡献比例尚未明确^[75]。

3.3 接合

在接合过程中,可移动的遗传元件(如质粒)以及整合和接合元件可从一种细菌转移到另一种细菌^[76]。Canton等^[77]研究了耐药质粒在病原菌中的传播,结果表明,耐药基因成功插入质粒后可在群落、物种甚至属间迅速传播。质粒在临床病原体之间抗生素耐药基因的传播中发挥着重要作用。Mulvey等^[78]发现医院患者肠道内的肺炎克雷伯菌和大肠埃希菌之间存在碳青霉烯类耐药性的接合转移。食物中耐药菌可通过接合转移将耐药基因转移至肠道细菌。Maeusli等^[79]将含耐药菌的生菜喂食小鼠,发现生菜中的不动杆菌将编码耐药基因的质粒转移到了小鼠体内的肺炎克雷伯菌中。Fernandez等^[80]通过喂食小鼠奶酪,发现奶酪中的植物乳杆菌将编码耐药基因的质粒pLFE1转移至小鼠粪肠球菌使其获得红霉素耐药性。肠道中高密度的细菌细胞和致密的黏液层为接合提供了有利环境,质粒介导的耐药基因水平转移是基因转移中的常见方式^[11,59]。

4 肠道耐药基因的研究方法

4.1 琼脂稀释法和肉汤稀释法

选择性培养基可对特定的肠道菌群进行计数和分离,并可通过稀释法检测分离菌株的抗生素耐药性^[81]。Mandar等^[82]从1~2岁儿童的粪便中分离出60株乳杆菌,研究发现所有菌株均对甲硝唑表现出耐药性,73%的菌株对万古霉素耐药,约一半的菌株对头孢西丁和环丙沙星耐药。钟嘉诚等^[83]分离出102株禽源致病性大肠埃希菌,发现致病性大肠埃希菌对阿莫西林、氨苄西林和头孢拉定的耐药率均在85.71%以上,对头孢唑林和头孢噻吩的耐药率分别为62.75%和47.06%。Delgado等^[84]分离出122株双歧杆菌和乳

杆菌,发现其中约一半乳杆菌对头孢西丁耐药,约30%双歧杆菌对四环素耐药。传统的分离培养技术有助于分析细菌的耐药表型和基因型^[85]。李玲等^[86]通过微量肉汤稀释法测定克隆菌株对甲氧苄啶的耐药性,结果显示克隆到大肠埃希菌中的新型*dfxB7*基因表现出对甲氧苄啶的高耐药性。丁晓敏等^[87]通过二倍琼脂稀释法测定产CTX-M-55型ESBLs的12株菌株对20种抗生素的敏感性,结果显示所有菌株对头孢噻肟表现出高耐药性,有10株均对环丙沙星表现出多重耐药。然而目前约80%的肠道细菌仍不可体外培养,该技术无法全面研究肠道耐药基因组^[85]。

4.2 定量PCR

从粪便中提取细菌DNA,并可通过定量PCR对特定的耐药基因进行定量^[85]。寇宏等^[88]采用PCR法检测了66株猪源大肠埃希菌携带耐药基因*sul1*、*sul2*和*sul3*的情况,结果显示3种耐药基因总检出率为100%,其中*sul3*检出率最高(100%),其次是*sul1*(89.4%)和*sul2*(77.3%),同时携带*sul1*、*sul2*和*sul3*等3种基因型的大肠埃希菌占74.2%。Buelow等^[89]通过定量PCR发现,选择消化道净化治疗的ICU患者肠道中氨基糖苷类耐药基因丰度有所增加。定量PCR技术克服了分离培养技术存在的缺陷,且可对样品中耐药基因进行定量分析^[90]。刘宇等^[91]通过PCR技术对不同养殖场畜禽粪便中耐药基因进行定量,发现生猪养殖场耐药基因相对丰度明显高于牛(羊)和鸡(鸭)养殖场。然而,定量PCR技术不能提供耐药基因的遗传背景和宿主信息^[90]。

4.3 宏基因组技术

宏基因组学领域大致可以分为两种不同的方法:基于序列宏基因组学和功能宏基因组学^[92]。基于序列宏基因组学通过研究样本中生物群落的所有基因组序列,探究人体的微生物多样性、种群结构和功能基因等方面,并可用于定量检测微生物群中的耐药基因^[93]。Hu等^[39]通过对来自丹麦、西班牙、中国的162名人体肠道微生物中的耐药基因进行宏基因组测序,共检出1093个耐药基因,其中中国人的耐药基因丰度最高,其次是丹麦人和西班牙人。Pérez-Cobas等^[94]利用宏基因组学研究了抗生素治疗

前后四名患者肠道菌群内的耐药基因,发现抗生素治疗后耐药基因丰度有所增加。

功能宏基因组学能够用于识别新型耐药基因,全面研究耐药基因的功能、活性和代谢产物,获得有关耐药基因遗传背景信息,为探究肠道中耐药基因的存在、传播提供了有效手段^[95-96]。Sommer等^[97]通过功能宏基因组技术研究了2名健康人体的粪便和唾液样本,共分离出290个抗生素耐药克隆,筛选出13种不同抗生素耐药基因片段。Moore等^[98]通过功能宏基因组技术分析22名健康婴儿和儿童粪便样本,发现了3个新型耐药基因。Buelow等^[89]基于fosmid文库的功能宏基因组学对住院患者肠道菌群进行研究,鉴定出5个妥布霉素、氨苄西林、四环素和红霉素耐药基因的克隆,并对耐药基因的fosmid文库插入片段进行测序,从而分析耐药基因的遗传背景。功能宏基因组学已广泛应用于人体肠道耐药基因的研究,一定程度上丰富补充了宏基因组测序研究^[90]。

5 结论与展望

肠道菌群作为耐药基因的储存库,存在着上千种耐药基因,正常肠道菌群能够维持宿主营养代谢、外源物和药物代谢以及肠黏膜屏障的结构完整性,因此维持肠道菌群稳态对人体健康至关重要。目前在部分食物和饮用水中检测到耐药菌和耐药基因,携带耐药基因的耐药菌可能通过食物链定植于人体肠道,此外,耐药基因可以通过质粒、转座子、整合子和噬菌体等可移动遗传元件在肠道菌群间以接合、转化和转导的方式进行水平转移,从而使敏感菌获得外源耐药基因,对人体健康造成重大威胁。现有测序技术和实验手段一定程度上揭示了耐药基因在肠道菌株间的传播程度,未来的研究重点可以集中到以下几点:

(1)肠道耐药基因的具体传播途径仍缺乏足够的认识,耐药基因在食物-人体、水体-人体中传播扩散的研究还需要进一步推进。

(2)完善现有的实验方法和技术手段,进一步探究耐药基因的动态水平转移过程。

(3)针对耐药基因的风险分级,对耐药基因的分析识别有待深入研究。

参考文献

- [1] Pilmis B, Monnier A L, Zahar J R. Gut microbiota, antibiotic therapy and antimicrobial resistance: A narrative review[J]. *Microorg*, 2020, 8(2): 1-16.
- [2] Das L, Virmani R, Sharma V, *et al*. Human milk microbiota: Transferring the antibiotic resistome to infants[J]. *Indian J Microbiol*, 2019, 59(4): 410-416.
- [3] Boto L, Pineda M, Pineda R. Potential impacts of horizontal gene transfer on human health and physiology and how anthropogenic activity can affect it[J]. *FEBS J*, 2019, 286(20): 3959-3967.
- [4] 付星宇, 汪庆, 毕聪聪, 等. 大气环境中抗生素耐药菌的来源与传播扩散研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2021, 46(9): 821-828.
- [5] Gomaa E Z. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: A review[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2020, 113(12): 2019-2040.
- [6] Ribeiro C F A, Silveira G, Candido E S, *et al*. Effects of antibiotic treatment on gut microbiota and how to overcome its negative impacts on human health[J]. *ACS Infect Dis*, 2020, 6(10): 2544-2559.
- [7] Balcazar J L. Implications of bacteriophages on the acquisition and spread of antibiotic resistance in the environment[J]. *Int Microbiol*, 2020, 23(4): 475-479.
- [8] Lermiaux N A, Cameron A D S. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments[J]. *Canadian J Microbiol*, 2019, 65(1): 34-44.
- [9] Li C, Chen J, Li S C. Understanding horizontal gene transfer network in human gut microbiota[J]. *Gut Pathog*, 2020, 12(1): 1-20.
- [10] 崔泽林, 郭晓奎. 食物链中抗生素耐药性基因的转移[J]. *中国微生物生态学杂志*, 2011, 23(1): 89-92.
- [11] Liu Y, Tong Z, Shi J, *et al*. Correlation between exogenous compounds and the horizontal transfer of plasmid-borne antibiotic resistance genes[J]. *Microorg*, 2020, 8(8): 1-16.
- [12] 郭业彬. 水环境中耐药菌污染与危害研究进展[J]. *中国微生物生态学杂志*, 2013, 25(10): 1232-1235.
- [13] Liu J, Taft D H, Maldonado-Gomez M X, *et al*. The fecal resistome of dairy cattle is associated with diet during nursing[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1-15.
- [14] Ruppe E, Ghazlane A, Tap J, *et al*. Prediction of the intestinal resistome by a three-dimensional structure-based method[J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(1): 112-123.
- [15] Baron S A, Diene S M, Rolain J M. Human microbiomes and antibiotic resistance[J]. *Hum Microbiome J*, 2018, 10: 43-52.
- [16] Corpet D E. Antibiotic residues and drug resistance in human intestinal flora[J]. *Antimicrob Agents Chem*, 1987, 31(4): 587-593.
- [17] Feng J, Li B, Jiang X, *et al*. Antibiotic resistome in a large-scale healthy human gut microbiota deciphered by metagenomic and network analyses[J]. *Envir Microbiol*, 2018, 20(1): 355-368.
- [18] Salyers A A, Gupta A, Wang Y. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes[J]. *Trends Microbiol*, 2004, 12(9): 412-416.
- [19] Grochowska M, Laskus T, Radkowski M. Gut microbiota in neurological disorders[J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2019, 67(6): 375-383.
- [20] Nadeem S F, Gohar U F, Tahir S F, *et al*. Antimicrobial resistance: More than 70 years of war between humans and bacteria[J]. *Crit Rev Microbiol*, 2020, 46(5): 578-599.
- [21] Bander Z A, Nitert M D, Mousa A, *et al*. The gut microbiota and inflammation: An overview[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(20): 1-21.
- [22] Schretter C E. Links between the gut microbiota, metabolism, and host behavior[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(2): 245-248.
- [23] Li W, Zhu Y, Liao Q, *et al*. Characterization of gut microbiota in children with pulmonary tuberculosis[J]. *BMC Pediatr*, 2019, 19(1): 1-10.
- [24] Lo B C, Chen G Y, Nunez G, *et al*. Gut microbiota and systemic immunity in health and disease[J]. *Int Immunol*, 2021, 33(4): 197-209.
- [25] Frank D N, Robertson C E, Hamm C M, *et al*. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(1): 179-184.
- [26] Wang K, Liang X, Pang Y, *et al*. The role of gut microbiota in host lipid metabolism: An eye on causation and connection[J]. *Small Methods*, 2019, 4(7): 1-18.
- [27] Amabebe E, Robert F O, Agbalalah T, *et al*. Microbial dysbiosis-induced obesity: Role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism[J]. *Br J Nutr*, 2020, 123(10): 1127-1137.
- [28] Chatelier E L, Nielsen T, Qin J, *et al*. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers[J]. *Nature*, 2013, 500(7464): 541-546.
- [29] O'Connor G T, Lynch S V, Bloomberg G R, *et al*. Early-life home environment and risk of asthma among inner-city

- children[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(4): 1468-1475.
- [30] Finegold S M, Dowd S E, Gontcharova V, *et al*. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children[J]. *Anaerobe*, 2010, 16(4): 444-453.
- [31] Fallani M, Young D, Scott J, *et al*. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: Geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics[J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2010, 51(1): 77-84.
- [32] Jimenez E, Marin M L, Martin R, *et al*. Is meconium from healthy newborns actually sterile?[J]. *Res Microbiol*, 2008, 159(3): 187-193.
- [33] Yin J, Xie L W, Luo Y H, *et al*. Diets, gut microbiota, and host metabolism[J]. *Front Nutr*, 2020, 7: 1-2.
- [34] Hunt K M, Foster J A, Forney L J, *et al*. Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): 1-8.
- [35] Koenig J E, Spor A, Scalfone N, *et al*. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2011, 108: 4578-4585.
- [36] Nogueira T, David P H C, Pothier J. Antibiotics as both friends and foes of the human gut microbiome: The microbial community approach[J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(1): 86-97.
- [37] Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, *et al*. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota[J]. *ISME J*, 2007, 1(1): 56-66.
- [38] Forslund K, Sunagawa S, Kultima J R, *et al*. Country-specific antibiotic use practices impact the human gut resistome[J]. *Genome Res*, 2013, 23(7): 1163-1169.
- [39] Hu Y, Yang X, Qin J, *et al*. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota[J]. *Nat Commun*, 2013, 4: 1-7.
- [40] Klassert T E, Zubiria-Barrera C, Kankel S, *et al*. Early bacterial colonization and antibiotic resistance gene acquisition in newborns[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 1-9.
- [41] 郝璐, 陈秋燕, 余丹丹, 等. 新生儿肠道耐药菌株基因变异起源[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2020, 8(8): 5-6, 13.
- [42] 文雯, 徐先林, 欧刚卫. 多种抗生素抗性基因在儿童肠道菌群的携带状况[J]. 遵义医学院学报, 2013, 36(2): 113-115.
- [43] Li J, Rettedal E A, Helm E, *et al*. Antibiotic treatment drives the diversification of the human gut resistome[J]. *Genomics Proteomics Bioinf*, 2019, 17(1): 39-51.
- [44] Escudero-Sanchez R, Ponce-Alonso M, Barragan-Prada H, *et al*. Long-term impact of suppressive antibiotic therapy on intestinal microbiota[J]. *Genes*, 2020, 12(1): 1-13.
- [45] Gu S L, Gong Y, Zhang J, *et al*. Effect of the short-term use of fluoroquinolone and β -lactam antibiotics on mouse gut microbiota[J]. *Infect Drug Resist*, 2020, 13: 4547-4558.
- [46] Jakobsson H E, Jernberg C, Andersson A F, *et al*. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome[J]. *PLoS One*, 2010, 5(3): 1-12.
- [47] Ghosh T S, Gupta S S, Nair G B, *et al*. In silico analysis of antibiotic resistance genes in the gut microflora of individuals from diverse geographies and age-groups[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): 1-15.
- [48] Lu N, Hu Y, Zhu L, *et al*. DNA microarray analysis reveals that antibiotic resistance-gene diversity in human gut microbiota is age related[J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 1-4.
- [49] 肖莎莎, 王燕. 动物肠道细菌定植规律研究进展[J]. 家畜生态学报, 2019, 40(9): 1-8.
- [50] Warinner C, Rodrigues J F, Vyas R, *et al*. Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(4): 336-344.
- [51] Clemente J C, Pehrsson E C, Blaser M J, *et al*. The microbiome of uncontacted Amerindians[J]. *Sci Adv*, 2015, 1(3): 1-12.
- [52] 方鼎丽, 方芳, 郭沁园, 等. 抗生素对肠道定植抗力的影响研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(2): 113-120.
- [53] Wuethrich I, Pelzer B W, Khodamoradi Y, *et al*. The role of the human gut microbiota in colonization and infection with multidrug-resistant bacteria[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-13.
- [54] Etcheverria A I, Arroyo G H, Perdigon G, *et al*. *Escherichia coli* with anti-O157:H7 activity isolated from bovine colon[J]. *J Appl Microbiol*, 2006, 100(2): 384-389.
- [55] Rea M C, Clayton E, O'connor P M, *et al*. Antimicrobial activity of lactacin 3,147 against clinical *Clostridium difficile* strains[J]. *J Med Microbiol*, 2007, 56(7): 940-946.
- [56] Kim S, Covington A, Pamer E G. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens[J]. *Immunol Rev*, 2017, 279(1): 90-105.
- [57] Barreto H C, Frazo N, Sousa A, *et al*. Mutation accumulation and horizontal gene transfer in *Escherichia coli* colonizing the gut of old mice[J]. *Commun Integr Biol*, 2020, 13(1): 89-96.
- [58] Kachrimanidou M, Tsintarakis E. Insights into the role of human gut microbiota in *Clostridioides difficile* infection[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(2): 1-16.
- [59] Frazo N, Sousa A, Lssig M, *et al*. Horizontal gene transfer overrides mutation in *Escherichia coli* colonizing the

- mammalian gut[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(36): 17906-17915.
- [60] Edlund C, Stark C, Nord C E, *et al.* The relationship between an increase in β -lactamase activity after oral administration of three new cephalosporins and protection against intestinal ecological disturbances[J]. *J Antimicrob Chemother*, 1994(1): 127-138.
- [61] Lofmark S, Jernberg C, Jansson J K, *et al.* Clindamycin-induced enrichment and long-term persistence of resistant *Bacteroides* spp. and resistance genes[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 58(6): 1160-1167.
- [62] 曹弘扬, 汪庆, 赵佳丽, 等. 食源性抗生素耐药菌的污染现状、传播扩散及健康风险研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2022, 47(10): 1002-1012.
- [63] Liu Y Y, Wang Y, Walsh T R, *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism mcr-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study[J]. *Lancet Infect Dis*, 2016, 16(2): 161-168.
- [64] Lester C H, Frimodt-Moller N, Sorensen T L, *et al.* In vivo transfer of the *vanA* resistance gene from an *Enterococcus faecium* isolate of animal origin to an *E. faecium* isolate of human origin in the intestines of human volunteers[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2006, 50(2): 596-599.
- [65] 郭业彬, 舒为群, 常晓松, 等. 温度与pH值对长江水系产超广谱 β -内酰胺酶大肠埃希菌耐药基因转移影响分析[J]. 微生物学杂志, 2010, 30(05): 29-35.
- [66] 姜瀚集, 付佳伦, 金敏, 等. 细菌耐药基因在斑马鱼体内转移规律的初步研究[J]. 环境与健康杂志, 2019, 36(5): 382-387.
- [67] Johnston C, Martin B, Fichant G, *et al.* Bacterial transformation: Distribution, shared mechanisms and divergent control[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2014, 12(3): 181-196.
- [68] Blokesch M. Natural competence for transformation[J]. *Curr Biol*, 2016, 26(21): 1126-1130.
- [69] 李万可兰, 蒋泓, 黄永芬, 等. 葡萄球菌耐药质粒转化大肠杆菌的实验研究[J]. 南方医科大学学报, 2010, 30(11): 2482-2484, 2487.
- [70] Ding C, Yang D, Ma J, *et al.* Effects of free antibiotic resistance genes in the environment on intestinal microecology of mice[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, 204: 1-11.
- [71] McInnes R S, McCallum G E, Lamberte L E, *et al.* Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the human gut microbiome[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2020, 53: 35-43.
- [72] Sutton T D S, Hill C. Gut bacteriophage: Current understanding and challenges[J]. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 1-18.
- [73] Modi S R, Lee H H, Spina C S, *et al.* Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome[J]. *Nature*, 2013, 499(7457): 219-222.
- [74] Fard R M N, Barton M D, Heuzenroeder M W. Bacteriophage-mediated transduction of antibiotic resistance in enterococci[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2011, 52(6): 559-564.
- [75] Enault F, Briet A, Bouteille L, *et al.* Phages rarely encode antibiotic resistance genes: A cautionary tale for virome analyses[J]. *ISME J*, 2017, 11(1): 237-247.
- [76] Ilangovan A, Connery S, Waksman G. Structural biology of the gram-negative bacterial conjugation systems[J]. *Trends Microbiol*, 2015, 23(5): 301-310.
- [77] Canton R, Coque T M. The CTX-M beta-lactamase pandemic[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2006, 9(5): 466-475.
- [78] Mulvey M R, Grant J M, Plewes K, *et al.* New Delhi metallo-beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada[J]. *Emerging Infect Dis*, 2011, 17(1): 103-106.
- [79] Maeusli M, Lee B, Miller S, *et al.* Horizontal gene transfer of antibiotic resistance from *Acinetobacter baylyi* to *Escherichia coli* on lettuce and subsequent antibiotic resistance transmission to the gut microbiome[J]. *Mosphere*, 2020, 5(3): 1-7.
- [80] Fernandez A G, Cloeckert A, Bertini A, *et al.* Comparative analysis of IncHI2 plasmids carrying *bla*_{CTX-M-2} or *bla*_{CTX-M-9} from *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* strains isolated from poultry and humans[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007, 51(11): 4177-4180.
- [81] 李海北, 杨沂嫡, 李君文, 等. 人类肠道菌群中抗生素耐药基因的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2021, 35(2): 81-89.
- [82] Mandar R, Lijvukene K, Huft P, *et al.* Antibacterial susceptibility of intestinal lactobacilli of healthy children[J]. *Scand J Infect Dis*, 2001, 33(5): 344-349.
- [83] 钟嘉诚, 仇桂玲, 陈济钊, 等. 广东地区禽源致病性大肠杆菌对5种 β -内酰胺类抗生素的耐药情况与ESBLs基因的携带情况[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2021, 16: 62-67.
- [84] Delgado S, Florez A B, Mayo B. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species from the human gastrointestinal tract[J]. *Curr Microbiol*, 2005, 50(4): 202-207.
- [85] Lagier J C, Dubourg G, Million M, *et al.* Culturing the human microbiota and culturomics[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2018, 16: 540-550.
- [86] 李玲, 王明钰, 徐海. 新型甲氧苄啶耐药二氢叶酸还原酶

- DfrB7*的生化分析与宿主菌耐药机制研究[J]. 微生物学报, 2021, 61(12): 4097-4105.
- [87] 丁晓敏, 张传珍, 张岩, 等. 屠宰肉沙门菌血清型鉴定及CTX-M型ESBLs的流行调查[J]. 中国兽医学报, 2020, 40(4): 707-712.
- [88] 寇宏, 吕世明, 谭艾娟, 等. 贵州省猪源大肠杆菌对磺胺类抗菌药物耐药性及耐药基因检测[J]. 中国兽医杂志, 2018, 54(9): 75-78.
- [89] Buelow E, Gonzalez T B, Versluis D, *et al.* Effects of selective digestive decontamination (SDD) on the gut resistome[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69(8): 2215-2223.
- [90] Willem S. The human gut resistome[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2015, 370(1670): 1-9.
- [91] 刘宇, 直俊强, 石奥, 等. 畜禽粪便中典型抗生素抗性基因的检测和分析[J]. 四川环境, 2021, 40(3): 12-18.
- [92] Schmieder R, Edwards R. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches[J]. *Future Microbiol*, 2012, 7(1): 73-89.
- [93] Song W, Wemheuer B, Zhang S, *et al.* Community-level horizontal gene transfer identification through the combination of best-match and phylogenetic approaches[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 1-14.
- [94] Perez-Cobas A E, Artacho A, Knecht H, *et al.* Differential effects of antibiotic therapy on the structure and function of human gut microbiota[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): 1-13.
- [95] 段宇婧, 吴新颜, 陈则友, 等. 人体肠道耐药基因组的研究进展[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(4): 1-10.
- [96] Verastegui Y, Cheng J, Engel K, *et al.* Multisubstrate isotope labeling and metagenomic analysis of active soil bacterial communities[J]. *Mbio*, 2014, 5(4): 1-12.
- [97] Sommer M O A, Dantas G, Church G M. Functional characterization of the antibiotic resistance reservoir in the human microflora[J]. *Science*, 2009, 325(5944): 1128-1131.
- [98] Moore A M, Patel S, Forsberg K J, *et al.* Pediatric fecal microbiota harbor diverse and novel antibiotic resistance genes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): 1-9.