综 述

亚抑制浓度抗生素对细菌水平基因转移的研究进展

丁曼琳[1,2]，陈文碧[2]，张菲阳[2]　综述　周英顺[2]　审校
1. 西南医科大学附属中医医院 检验科（泸州 646000）；2. 西南医科大学基础医学院 病原教研室（泸州 646000）

【摘　要】抗生素在人和动物细菌性感染疾病的预防和治疗中起着关键作用。抗生素的广泛使用导致细菌暴露在低于最低抑菌浓度（即亚抑菌浓度）的环境、人类和牲畜中，从而导致抗生素耐药性。细菌主要通过水平基因转移获得耐药性，目前，国内外均有研究报道亚抑制浓度抗生素可以影响细菌水平的基因转移。本文介绍了亚抑制浓度抗生素的定义和产生的来源；阐述了亚抑制浓度抗生素对细菌水平基因转移的影响，并通过SOS应答，ROS和群体感应这三个方面描述了亚抑制浓度抗生素介导水平基因转移的机制，对临床了解耐药基因传播及开展积极防治均具有重要意义。

【关键词】亚抑制浓度；抗生素；水平基因转移
【中图分类号】R378.99　　文献标志码 A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.05.016

Research progress of horizontal gene transfer induced by sub-inhibitory concentration of antibiotics in bacteria

DING Manlin[1,2], *CHEN Wenbi*[2], *ZHANG Feiyang*[2] reviewing　*ZHOU Yingshun*[2] checking
1.*Department of Clinical Laboratoyr, the Affiliated T.C.M Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*; 2.*Department of Pathogen, School of Basic Medical Sciences, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*

【**Abstract**】Antibiotics play a key role in the prevention and treatment of human and animal bacterial infections. The widespread use of antibiotics causes bacteria to be exposed to the environment, humans and livestock at levels below the minimum inhibitory concentration (i.e., subinhibitory concentration), leading to antibiotic resistance. Bacteria acquire drug resistance mainly through horizontal gene transfer. At present, both domestic and foreign studies have reported that antibiotics with subinhibitory concentration can affect horizontal gene transfer of bacteria. In this paper, the definition and origin of subinhibitory concentration antibiotics were introduced. This paper expounded the effects of subinhibitory antibiotics on horizontal gene transfer in bacteria, and described the mechanisms of horizontal gene transfer mediated by subinhibitory antibiotics through SOS response, ROS and quorum sensing, which was of great significance for clinical understanding of the transmission of drug resistance genes and active prevention and treatment.

【**Key words**】Sub-inhibitory concentration; Antibiotics; Horizontal gene transfer

近年来，抗生素耐药性在全球范围内构成了严重的公共卫生威胁[1]。编码β-内酰胺酶的抗生素耐药基因（antibiotic resistance genes，ARGs）如 *bla*$_{KPC}$、*bla*$_{CTX}$ 和 *bla*$_{OXA}$ 等，已在各种环境中检测到，包括河流[2-3]、海水[4]、污水[5-7]、土壤[8-9]、医院环境[10]等，使细菌获得对大多数青霉素类和头孢菌素类抗生素的耐药性，对人类健康危害极大。

1928年，格里菲斯（Griffith）首次描述了水平基因转移（horizontal gene transfer，HGT）的现象[11]，并发现了细菌获得外源DNA的一种方式。HGT由转化、转导和接合这3种不同的机制介导。ARGs的水平转移是加速环境中抗生素耐药性形成和富集的主要原因之一，基因的转移不仅可以发生在同源细菌之间，也可以发生在革兰阳性与革兰阴性细菌之间，甚至发生在不同域之间，导致细菌耐药问题日渐严峻[12-13]。

高浓度的抗生素抑制细菌生长，而亚抑制浓度的抗生素作为细菌通讯和信号的媒介，改变细菌的转录代谢水平。例如，亚抑制浓度可以诱导一系列基因表达谱发生改变，如氧化应激、动力、毒力和生物膜形成能力[14]，在抗生素耐药性和致病性中起着关键作用。目前，有研究报道细菌在亚抑制浓度抗生素下会增加水平基因转移频率，故本文从耐药基因传播的角度出

基金项目：国家自然科学基金（31500114）；四川省科技厅基金（2020YJ0338）
第一作者简介：丁曼琳，硕士生。
通信作者：周英顺，副教授，博士。E-mail: yingshunzhou@swmu.edu.cn
引用本文：丁曼琳，陈文碧，张菲阳，等. 亚抑制浓度抗生素对细菌水平基因转移的研究进展[J]. 西南医科大学学报，2022，45（5）：447-450. DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.05.016

发，阐明亚抑菌浓度抗生素对细菌水平基因转移的影响。

1 亚抑制浓度抗生素定义及来源

抗生素主要用于治疗致病菌，其残留物也可以释放到环境中，例如污水。通常，环境中抗生素的浓度很低，在ng/L范围内[15-16]，这些低浓度的抗生素并不影响细菌生长，被称为亚抑制浓度（sub-minimum inhibitory concentration，sub-MIC）。

在抗生素的临床应用中，需要结合药物动力学参数给药，并使抗生素浓度大于最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC）。然而，在实际应用中，感染部位抗生素的浓度往往低于MIC，原因有以下几点：药物动力学因素导致在组织器官中达不到MIC浓度、药物-药物相互作用[17]、不规范用药[18]、细菌形成生物膜抵御抗生素[19]、病人的某些临床或健康状况可能导致抗生素在体循环中的生物利用度降低，从而可能导致抗生素的亚治疗水平。在畜牧业中，抗生素在动物疾病预防和治疗中起着重要作用，亚抑制浓度的抗生素还被用作生长促进剂（as growth promoters，AGPs），可以促进动物生长。

2 亚抑制浓度抗生素对水平基因转移的影响

目前，国内外也有很多研究表明亚抑制浓度可以促进耐药基因的水平转移。亚抑制浓度的环丙沙星和左氧氟沙星处理供体菌8 h后，均可显著促进大肠杆菌RP4质粒转入铜绿假单胞菌的接合频率，且呈剂量依赖性[20]。最近的研究表明，0.001 μg/ mL的亚浓度四环素（1/150 × MIC）处理后，接合转移频率增加了约4倍，说明亚抑制浓度的四环素可以促进抗生素耐药基因的水平转移[21]。鄂顺梅[22]等人发现，大肠杆菌经1/16 × MIC-1/256 × MIC浓度的环丙沙星处理后，与对照组相比，接合频率均升高，其中1/256 × MIC处理组升高1.5倍，接合频率升高趋势与本研究相似：随着亚抑制浓度的降低，接合频率逐渐升高。

目前，在肠道中的HGT报道较少。肠道是一个复杂的生态系统，宿主提供源源不断的营养物质，维持肠道微生物群的活跃代谢；其种群密度极高[23]，有利于细菌之间密切接触，为HGT创造条件；还有肠道菌群的多样性[24]，这些条件使细菌能够交换遗传物质，包括耐药基因和毒力基因，以适应肠道中的不利条件[25]，所以动物肠道越来越被认为是细菌交换遗传物质的“熔炉”[26]。ZHANG等报道环丙沙星可以增强志贺毒素的肠内转导[27]。GÖTTIG等研究了耐药基因bla_{OXA-48}在大蜡螟和小鼠体内的接合转移频率，结果表明，体外接合频率为8.7×10^{-7}，在大蜡螟体内接合频率为1.3×10^{-4}，高出体外接合频率149.425倍，在小鼠肠道内接合频率为2.9×10^{-5}，高出体外接合频率33.333倍[28]。有大量的证据表明，在实验条件下的动物肠道内，抗生素的亚抑制作用可能显著增加水平基因转移的频率[29]。

但是到目前为止，HGT是如何在肠道中发生的，特别是在肠道中影响HGT效率的体内因素方面，仍有很大程度上的未知。我们对肠道内HGT的了解主要建立在广泛的体外研究上，如果有一种特定抗生素被证明可以极大地提高HGT在肠道的效率，特别是可以通过不同的HGT通路（接合、转导或转化）传播耐药基因，建议在食用动物中限制该抗生素的使用，可以减少耐药基因传播和多重耐药病原体出现的风险。

3 亚抑制浓度抗生素影响接合转移的机制

3.1 SOS应答

SOS反应是由*lexA*和*recA*基因调控的，是一种由DNA损伤引发的、诱导DNA修复和突变的应激反应[30]。SOS反应基因的转录通常受到抑制。在染色体损伤时，暴露的单链DNA可以吸引RecA形成核蛋白丝，而核蛋白丝通过促进LexA阻遏物的分裂激活SOS基因的表达[31]。

目前，已知的几种抗生素（氟喹诺酮类[32]、β-内酰胺类[33-34]和甲氧氨苄嘧啶[35]）可诱发SOS应答并增加细菌的突变频率。此外，ELISA等发现β-内酰胺抗生素通过激活SOS应答增加金黄色葡萄球菌毒力岛基因的复制和在群体中的传播能力[36]。环丙沙星可导致志贺毒素编码噬菌体诱导并增强大肠杆菌O157：H7的志贺毒素的水平转移[27]。通过接合和基因表达分析，BEABER等证明，使用SOS诱导剂丝裂霉素C和喹诺酮类抗生素环丙沙星诱导SOS反应，可以显著增强大肠杆菌和霍乱弧菌的ICE转移（300倍）[37]。

3.2 ROS产生

活性氧簇（reactive oxygen species，ROS）在许多生理和病理过程中扮演重要角色。近年的研究发现，亚抑制浓度的抗生素介导积累的ROS可通过诱导MarA和SoxS提高细菌耐药、耐受性的产生[38-39]。HAN[40]等发现亚抑制浓度的季铵盐类化合物增强了细菌的膜通透性，刺激细菌产生ROS，这可能促进了质粒在细菌之间的转移。LU[41]等发现三氯生可以触发ROS从而促进细菌之间的ARGs接合转移。这些发现提高了我们对抗生素耐药性传播的潜在风险的认识。

3.3 群体感应

群体感应是一种细菌密度依赖性现象，是通过细菌向细胞外环境中产生和释放信号分子（自诱导剂）介导的[42-43]。最近的研究也表明，一些涉及群体感应的微生物衍生因子可以促进HGT。

质粒的接合转移也受群体感应的调控，亚抑制浓度的四环素可以促进RP4质粒的接合转移，这一过程

可以被群体感应激动剂促进，也可被群体感应抑制剂抑制。LU[44]等发现AHLs-SdiA化学信号具有抑制接合转移的作用，群体感应调节基因*sdiA*的缺失促进了*tral*基因mRNA的表达。细菌信息素是与群体感应信号通路相关的分泌肽，也通过细胞间信号系统调控接合质粒的转移。由于信息素在肠内肠球菌中普遍存在，群体感应可能在肠道内肠球菌间的HGT中起重要作用[45]。

4 小结

抗生素的亚抑制浓度增强接合频率已经是细菌中普遍存在的现象。本文从SOS应答，ROS产生和群体感应三方面阐述亚抑制抗生素压力介导质粒接合频率的机制，有助于我们进一步掌握耐药基因传播机制，对缓解耐药基因传播具有重要的临床意义。

（利益冲突：无）

参 考 文 献

[1] DURANTE-MANGONI E, ANDINI R, ZAMPINO R. Management of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections [J]. Clin Microbiol Infect, 2019, 25(8): 943-50.

[2] TEIXEIRA P, TACAO M, PUREZA L, *et al*. Occurrence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a Portuguese river: blaNDM, blaKPC and blaGES among the detected genes [J]. Environmental pollution, 2020, 260: 113913.

[3] FURLAN J P R, RAMOS M S, DOS SANTOS L D R, *et al*. Appearance of mcr-9, blaKPC, cfr and other clinically relevant antimicrobial resistance genes in recreation waters and sands from urban beaches, Brazil [J]. Mar Pollut Bull, 2021, 167: 112334.

[4] 孟俞辰，牛雪可，邱文，等. 中国东海海水中弧菌的分离鉴定及耐药性分析 [J]. 贵州医科大学学报，2018，43(4): 6.

[5] BUENO I, VERDUGO C, JIMENEZ-LOPEZ O, *et al*. Role of wastewater treatment plants on environmental abundance of Antimicrobial Resistance Genes in Chilean rivers [J]. International journal of hygiene and environmental health, 2020, 223 (1): 56-64.

[6] HOOBAN B, FITZHENRY K, O'CONNOR L, *et al*. A Longitudinal Survey of Antibiotic-Resistant Enterobacterales in the Irish Environment, 2019-2020 [J]. The Science of the total environment, 2022, 828: 154488.

[7] 张馨琢，江南，黄永茂，等. 医院污水中碳青霉烯不敏感菌多样性及碳青霉烯耐药基因研究 [J]. 泸州医学院学报，2018，041(002): 133-136.

[8] ANTELO V, GIMENEZ M, AZZIZ G, *et al*. Metagenomic strategies identify diverse integron-integrase and antibiotic resistance genes in the Antarctic environment [J]. Microbiologyopen, 2021, 10(5): e1219.

[9] BENLABIDI S, RADDAOUI A, ACHOUR W, *et al*. Genetic characterization of ESBL/pAmpC-producing Escherichia coli isolated from forest, urban park and cereal culture soils [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2021, 97(11): fiab146.

[10] 孙瑞，何丹，郝雯，等. 泸州地区医院环境中产超广谱β-内酰胺酶大肠杆菌耐药基因研究 [J]. 西南医科大学学报，2018，41(5): 393-397.

[11] GRIFFITH F. The Significance of Pneumococcal Types [J]. Journal of Hygiene, 1928, 27(2): 113-59.

[12] BRITO I L. Examining horizontal gene transfer in microbial communities [J]. Nature reviews Microbiology, 2021, 19 (7): 442-453.

[13] 胡大春，赵晓丽，邵剑春，等. 临床分离阴沟肠杆菌耐药性水平传播研究 [J]. 临床和实验医学杂志，2008，7(8): 2.

[14] DAVIES J, SPIEGELMAN G B, Yim G. The world of subinhibitory antibiotic concentrations [J]. Curr Opin Microbiol, 2006, 9 (5): 445-453.

[15] ZOU H, HE J, GUAN X, *et al*. Microbial responses underlying the denitrification kinetic shifting exposed to ng/L- and mug/L-level lomefloxacin in groundwater [J]. Journal of hazardous materials, 2021, 417: 126093.

[16] HUANG F, AN Z, MORAN M J, *et al*. Recognition of typical antibiotic residues in environmental media related to groundwater in China (2009-2019) [J]. Journal of hazardous materials, 2020, 399: 122813.

[17] PAI M P, MOMARY K M, RODVOLD K A. Antibiotic drug interactions [J]. The Medical clinics of North America, 2006, 90 (6): 1223-1255.

[18] ZHOU C, CHEN X, WU L, *et al*. Distribution of drug-resistant bacteria and rational use of clinical antimicrobial agents [J]. Experimental and therapeutic medicine, 2016, 11(6): 2229-2232.

[19] RANIERI M R, WHITCHURCH C B, BURROWS L L. Mechanisms of biofilm stimulation by subinhibitory concentrations of antimicrobials [J]. Curr Opin Microbiol, 2018, 45: 164-169.

[20] SHUN-MEI E, ZENG J M, Yuan H, *et al*. Sub-inhibitory concentrations of fluoroquinolones increase conjugation frequency [J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 114: 57-62.

[21] KIM S, YUN Z, HA U H, *et al*. Transfer of antibiotic resistance plasmids in pure and activated sludge cultures in the presence of environmentally representative micro-contaminant concentrations [J]. Science of the Total Environment, 2014, 468-469 (jan.15): 813-820.

[22] 鄂顺梅，龙一飞，曾建明，等. 亚抑菌浓度环丙沙星对大肠埃希菌喹诺酮类耐药质粒接合转移的影响 [J]. 山东医药，2017，57 (043): 25-28.

[23] 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.

[24] DURACK J, LYNCH S V. The gut microbiome: Relationships with disease and opportunities for therapy [J]. The Journal of experimental medicine, 2019, 216(1): 20-40.

[25] CAPOZZI V, SPANO G. Horizontal gene transfer in the gut: Is it a risk? [J]. Food Research International, 2009, 42(10): 1501-1502.

[26] SHTERZER N, MIZRAHI I. The animal gut as a melting pot for horizontal gene transfer [J]. Canadian journal of microbiology, 2015, 61(9): 603-605.

[27] ZHANG X, MCDANIEL A D, Wolf L E, *et al*. Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice [J]. The Journal of infectious diseases, 2000, 181(2): 664-670.

[28] GOTTIG S, GRUBER T M, Stecher B, *et al*. In Vivo Horizontal Gene Transfer of the Carbapenemase OXA-48 During a Nosocomial Outbreak [J]. Clinical Infectious Diseases, 2015, 60

(12): 1808-1815.
[29] AMINOV R I. Horizontal gene exchange in environmental microbiota [J]. Front Microbiol, 2011, 2: 158.
[30] CRANE J K, ALVARADO C L, SUTTON M D. Role of the SOS Response in the Generation of Antibiotic Resistance In Vivo [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2021, 65(7): e0001321.
[31] MASLOWSKA K H, Makiela-Dzbenska K, Fijalkowska I J. The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage [J]. Environ Mol Mutagen, 2019, 60(4): 368-384.
[32] ADEFISAYO O O, DUPUY P, NAUTIYAL A, *et al*. Division of labor between SOS and PafBC in mycobacterial DNA repair and mutagenesis [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(22): 12805-12819.
[33] LIU P, WU Z, XUE H, *et al*. Antibiotics trigger initiation of SCCmec transfer by inducing SOS responses [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(7): 3944-3952.
[34] ROEMHILD R, LINKEVICIUS M, ANDERSSON D I. Molecular mechanisms of collateral sensitivity to the antibiotic nitrofurantoin [J]. PLoS Biol, 2020, 18(1): e3000612.
[35] BHATTACHARYYA S, BERSHTEIN S, ADKAR B V, *et al*. Metabolic response to point mutations reveals principles of modulation of in vivo enzyme activity and phenotype [J]. Mol Syst Biol, 2021, 17(6): e10200.
[36] MAIQUES E, UBEDA C, CAMPOY S, *et al*. beta-lactam antibiotics induce the SOS response and horizontal transfer of virulence factors in Staphylococcus aureus [J]. J Bacteriol, 2006, 188(7): 2726-2729.
[37] BEABER J W, HOCHHUT B, WALDOR M K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes [J]. Nature, 2004, 427(6969): 72-74.
[38] KOHANSKI M A, DEPRISTO M A, Collins J J. Sublethal antibiotic treatment leads to multidrug resistance via radical-induced mutagenesis [J]. Mol Cell, 2010, 37(3): 311-320.
[39] ALEKSHUN M N, LEVY S B. The mar regulon: multiple resistance to antibiotics and other toxic chemicals [J]. Trends Microbiol, 1999, 7(10): 410-413.
[40] HAN Y, ZHOU Z C, ZHU L, *et al*. The impact and mechanism of quaternary ammonium compounds on the transmission of antibiotic resistance genes [J]. Environmental science and pollution research international, 2019, 26(27): 28352-28360.
[41] LU J, WANG Y, LI J, *et al*. Triclosan at environmentally relevant concentrations promotes horizontal transfer of multidrug resistance genes within and across bacterial genera [J]. Environment international, 2018, 121(Pt 2): 1217-1226.
[42] WU S, LIU J, LIU C, *et al*. Quorum sensing for population-level control of bacteria and potential therapeutic applications [J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(7): 1319-1343.
[43] 牛雪可, 康颖倩. 细菌群体感应与多样性关系的研究进展 [J]. 贵州医科大学学报, 2019, 44(5): 4.
[44] LU Y, ZENG J, WU B, *et al*. Quorum Sensing N-acyl Homoserine Lactones-SdiA Suppresses Escherichia coli-Pseudomonas aeruginosa Conjugation through Inhibiting traI Expression [J]. Frontiers in cellular and infection microbiology, 2017, 7: 7.
[45] CLEWELL D B. Properties of Enterococcus faecalis plasmid pAD1, a member of a widely disseminated family of pheromone-responding, conjugative, virulence elements encoding cytolysin [J]. Plasmid, 2007, 58(3): 205-227.

(2021-06-17 收稿, 2022-05-21 修回)

《西南医科大学学报》2023年重点选题计划

《西南医科大学学报》是经国家新闻出版广电总局批准向国内外公开发行的综合性医学学术期刊，中国高校优秀科技期刊。本刊为双月刊，以学术性、实用性、新颖性、规范化、标准化为主要特点，刊载栏目主要有专家述评、专家论坛、技术创新、基础医学研究、临床医学研究、影像医学研究、药学研究、护理学、综述等。

2023年，本刊将继续秉承办刊宗旨，更好地搭建国内外学术交流平台，不断促进医药卫生事业的发展。在广泛征集和吸纳读者意见的基础上，综合本刊专家和编委的建议，确定如下2023年重点选题方向。请相关作者按照本刊“投稿须知要求”撰写较高水平的学术论文，并提前半年投稿，以争取能早审稿、早录用、早刊发。

期号	选题方向
1期	普外、消化、感染
2期	麻醉、疼痛、肿瘤
3期	妇科、产科、儿科
4期	心血管、影像、介入
5期	肾脏病、内分泌、血液
6期	急诊、重症、康复