

· 综 述 ·

水产品中嗜水气单胞菌耐药性研究进展

任亚林¹, 李耘¹, 韩刚², 朱锋¹, 刘畅¹, 宋金龙²

1 中国农业科学院 农业质量标准与检测技术研究所, 北京 100081

2 中国水产科学研究院, 北京 100141

任亚林, 李耘, 韩刚, 等. 水产品中嗜水气单胞菌耐药性研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(5): 759–765.

Ren YL, Li Y, Han G, et al. Research advances in drug resistance of *Aeromonas hydrophila* in fishery. Chin J Biotech, 2019, 35(5): 759–765.

摘 要: 嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila* 具有广泛的致病性, 是水生动植物最常见的致病菌之一。由于抗生素不合理使用、质粒以及耐药基因的水平转移等因素, 来自零售市场、超市和餐厅的即食海鲜产品中, 均可分离出大量的嗜水气单胞菌耐药菌株及其耐药基因。因此, 探明关键控制点、寻求有效缓解抗生素耐药性的防控策略至关重要。文中介绍了我国嗜水气单胞菌的耐药现状, 嗜水气单胞菌的主要侵染及耐药机制, 以及目前削减和防控耐药性的主要手段和策略, 并对水产品耐药性研究方向和重点作出展望。

关键词: 耐药机制, 耐药防控, 嗜水气单胞菌

Research advances in drug resistance of *Aeromonas hydrophila* in fishery

Yalin Ren¹, Yun Li¹, Gang Han², Feng Zhu¹, Chang Liu¹, and Jinlong Song²

1 Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Products of CAAS, Beijing 100081, China

2 Chinese Academy of Fishery Sciences, Beijing 100141, China

Abstract: As one of the most common pathogens in aquatic animals, *Aeromonas hydrophila* exhibits a wide range of pathogenicity. Due to factors like unreasonable use of antibiotics and horizontal gene transfer mediated by plasmids, many resistant strains of *Aeromonas hydrophila* were isolated from ready-to-eat seafood products in retail markets, supermarkets and restaurants. These strains carry many resistance genes. Therefore, it is essential to explore the key control points, and seek for prevention and control strategies so as to effectively alleviate antibiotic resistance. We review here the prevalence of drug resistance of *Aeromonas hydrophila* in China, and its main infection and resistance mechanisms, and the main means and strategies for reducing and preventing drug resistance. We also address further research directions and focus on drug resistance in *Aeromonas hydrophila* of the aquatic product.

Keywords: resistance mechanism, prevention, *Aeromonas hydrophila*

Received: September 27, 2018; **Accepted:** November 29, 2018

Supported by: National Key R&D Program of China (No. 2017YFC1600704).

Corresponding author: Yun Li. Tel/Fax: +86-10-82106539; E-mail: gz-liyun@126.com

国家重点研发计划 (No. 2017YFC1600704) 资助。

1 嗜水气单胞菌耐药性现状

嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila* 是引起水产养殖病害的最常见致病菌之一,广泛存在于水体、土壤及水生动物体内,是一种典型的人-畜-水生动物共患病的条件致病菌,可大规模引起淡水鱼类皮肤溃疡和急性出血性败血症^[1-5]。近年来,人类因嗜水气单胞菌感染而发生急性霍乱及伤口化脓的病例也时有报道^[6]。由于抗菌药物的不合理使用以及耐药菌株和耐药基因的传播,导致嗜水气单胞菌耐药问题突出^[7-9],给水产动物嗜水气单胞菌病的防治带来困难,同时严重影响水产动物源食品的质量安全。

嗜水气单胞菌耐药菌株表现出耐药谱广、耐药率高的特点^[10-11]。目前,从水生动物中分离出的嗜水气单胞菌多耐药现象普遍,表 1 以韩国地区为例综述了 2018 年不同水生动物源分离株对多种抗生素的耐药率,结果显示,菌株对 β -内酰胺类、氨基糖苷类、喹诺酮类等多种抗生素均有不同程度耐药。虽然不同地区用药方式的差别导

表 1 2018 年韩国地区水产源嗜水气单胞菌对常见抗生素的耐药率^[12-14]

Table 1 Antimicrobial resistance rate of *Aeromonas hydrophila* in in South Korea in 2018^[12-14]

Antibiotic	Abbreviation	Aquatic	Resistance rate (%)
Amoxicillin	AML	Patinopecten	100.00
Cephalothin	KF	Patinopecten	100.00
		Goldfish	61.54
Ampicillin-sulbactam	AMP	Patinopecten	100.00
		Goldfish	98.46
Ciprofloxacin	CIP	Zebrafish	6.98
Tetracycline	TE	Goldfish	92.31
		Zebrafish	23.26
Nalidixic acid	NA	Patinopecten	21.00
		Goldfish	100.00
Rifampin	RFP	Patinopecten	27.00
		Goldfish	86.15
		Zebrafish	18.60
Vancomycin	VA	Patinopecten	100.00
Polymyxin B	PB	Patinopecten	100.00

致菌株耐受情况不同,但表 1 仍在一定程度反映了当前嗜水气单胞菌耐药现状。

2 嗜水气单胞菌耐药机制

2.1 获得性耐药

细菌耐药机制包括固有耐药性和获得耐药性。固有耐药性由细菌染色体上耐药基因引起,细菌对某些抗生素不敏感,具有典型的种属特异性,研究报道^[15]气单胞菌对青霉素具有固有抗性,其细胞壁最外层由疏水性脂多糖形成,阻止一些未修饰青霉素的扩散,此耐药性为细菌所固有,与抗菌药物的使用无关。

获得性耐药指通过质粒、转座子及整合子等介导的基因水平转移以及染色体突变方式而使细菌获得新的基因,从而具有耐药性,获得性耐药是细菌耐药主要因素。多项研究^[16-17]表明,水环境可充当抗生素抗性基因储库,细菌通过质粒等可移动元件介导的基因水平转移从环境中其他耐药菌获得抗药基因,导致复杂表型出现,甚至多重耐药 (Multi-drug resistance, MDR) 发生。并且,近期 Collignon 等^[18]研究显示耐药菌株和耐药基因的传播可能是耐药性扩散的主要因素。Fu 等^[19]研究发现在水族箱中引入携带自我转移质粒编码抗生素抗性基因 (ARG) 的供体后,斑马鱼内脏中 15% 的菌群通过 RP4 介导的接合转移获得 ARG。Hossain 等^[20]通过 PCR 检测抗菌药物耐药基因发现,在质粒介导的耐喹诺酮类菌株中耐药基因 *qnrS* 最常见,占比 73.85%。Alcaide 等^[21]通过 PCR 检测喹诺酮耐药决定区 (QRDR) 靶位突变情况,发现 33 株气单胞菌对喹诺酮类药物的耐药性与 QRDR 区 DNA 促旋酶 *gyrA* 和 DNA 拓扑异构酶 *parC* 基因突变有关。

2.2 主动外排泵作用

由细菌中膜定位泵蛋白组成的外排系统负责排出各种外源和内源性物质,与细菌抗生素耐药

密切相关。Hernould 等^[22]首次报道了嗜水气单胞菌存在引起内源性多重耐药的外排泵机制。Chenia 等^[23]研究发现,在诱导嗜水气单胞菌的药敏试验中添加外排泵抑制剂 PA β N 后,萘啶酸耐药性减少 2 倍,证实外排泵在嗜水气单胞菌耐药中起到重要作用。同样, Pu 等^[24]利用体内荧光成像和高通量测序技术研究发现,在 β -内酰胺类抗生素处理下, *TolC* 等多种药外排基因表达量显著增加,由于外排活性增强,细菌内药物积累量降低而产生耐药性;试验结果证明,外排抑制剂和抗生素共同作用可有效减少耐药性形成。

另外,有研究发现^[25-26]活性氧自由基 (ROS) 在细菌耐药及抗生素杀菌方面发挥重要作用。非致死浓度的抗生素作用下产生的 ROS 会通过影响 MarR (Multiple antibiotic resistance repressor)-MarA (Multiple antibiotic resistance activator) 激活药物外排泵,通过 SoxR (Superoxide response transcriptional regulator)-SoxS (Superoxide response transcription factor) 途径启动细菌应激保护机制以及通过促进 SOS DNA 损伤修复系统诱导耐药突变,从而产生耐药性。而致死浓度的抗生素作用产生的 ROS 则会参与抗生素杀菌并减少耐药菌产生。

2.3 细胞膜渗透性改变

革兰氏阴性菌耐药菌株难以防控主要是因为其具有不对称双层外膜,疏水抗生素如氨基糖苷类和大环内酯类通过新陈代谢的功能依赖性扩散穿过细胞膜^[27]。然而,目前识别小分子渗透性的方法较为欠缺,严重限制了对抗生素通过外膜渗透相关分子机制的认识,这也是革兰氏阴性菌耐药性机制研究需要填补的空白。Joris 等^[28]研究发现,暴露于 H₂O₂ 条件下,细菌通过周质中蛋白质内纽带(外膜和内膜之间的空隙)结构的变化来打开或关闭特定间隙,并改变对活性氧物质及 β -内酰胺类抗生素摄取的敏感性。同时还证实通过改变外膜孔蛋白通道调节细菌膜渗透性可影响细菌毒力

特征及抗生素耐受性。另外嗜水气单胞菌有 S 层,由蛋白或糖蛋白亚单位组成,规则排列于细胞表面,耐药菌合成此类物质过多,分子间距变小同样可能是药物受阻和表面结构变化的原因之一。

2.4 抗生素原位降解和酶修饰

嗜水气单胞菌可降解或修饰抗生素,以产生耐药性。Vilacosta 等^[29]通过监测 ARG、营养素、磺胺类抗生素及其降解产物浓度以研究水生系统中细菌对磺胺类抗生素的主要耐受机制。研究结果显示,在试验前 4 周,磺胺类抗生素被生物膜很好地降解;添加高浓度抗生素后,生物膜中 ARG 丰度急剧下降,但用低浓度抗生素处理时未观察到此现象;在污染水域添加高浓度磺胺类抗生素(较低 ARG 丰度),其降解速度更快,这表明抗生素原位降解和 ARG 是微生物群体采用的两种互补抗性策略,原位降解在高浓度抗生素添加中发挥作用,而 ARG 扩散在相对较低的抗生素浓度下更为重要。

细菌还可通过酶将化学基团添加到抗生素分子上的易受攻击部位,使之产生位阻使抗生素不能与靶蛋白结合,从而产生抗生素耐药性。过去的研究^[30]表明, C 类 β -内酰胺酶可使嗜水气单胞菌对头孢类抗生素产生耐药性;另外,氨基糖苷类抗生素具有很多暴露的羟基和酰胺基团,易被修饰,氨基糖苷类钝化酶使得细菌对所修饰的抗生素具有高水平耐药性。常见的氨基糖苷类钝化酶有乙酰转移酶、磷酸转移酶和腺苷酸转移酶,分子动力学研究表明这 3 种酶均可与氨基糖苷类药物结合,因为其活性位点模拟了核糖体结合分裂的目标环境^[31]。

3 耐药性防控措施

细菌耐药性的传播和加剧使其对人类的生存健康和生产生活造成极大危害。世界卫生组织(WHO)、欧盟食品安全局(EFSA)以及美国疾病预

防中心 (CDC)、美国食品药品监督管理局 (FDA)、美国农业部 (USDA) 等均强调削减和预防微生物耐药性传播为当今疾病预防和公共安全的重要内容。目前, 在使用抗生素或抗菌药物的基础上寻求新的方法以控制细菌耐药性是未来的严峻挑战。

3.1 天然活性替代药物使用

目前, 益生菌、生物肽、噬菌体、溶菌酶等广泛用于传统抗生素替代品以控制耐药菌产生。世界卫生组织 (WHO) 定义益生菌是一定数量可对宿主健康产生有益作用、活的微生物。在水产养殖中, 益生菌主要通过促进消化酶、抑制致病微生物、促生长因子和增强宿主免疫等途径维持水产品健康。Yi 等^[32]研究发现益生菌 *Bacillus velezensis* JW 对嗜水气单胞菌等各种鱼类致病细菌具有抗菌活性, 且 JW 菌株喂养的鱼在嗜水气单胞菌感染后存活率显著提高。Bustillo 等^[33]研究发现, 完整的 Hipposin 生物肽中含有 parasin 和 buforin II (BF2) 序列, 这两种已知的抗菌肽通过不同的抗菌机制起作用。其中 parasin 通过诱导膜透化杀死细菌, 且此作用与其 N-末端结构域的存在有关; 而 buforin II 通过进入细胞后与细胞内核酸互作损伤细菌。Le 等^[34]研究发现噬菌体可有效抑制气单胞菌的生长, 对抗多重耐抗生素的气单胞菌株也具有广泛活性, 证明使用噬菌体可作为有效的生物治疗方法来控制水产养殖中气单胞菌败血症 (MAS) 的发生。

中药具有抗病菌、抗病毒及提高免疫力等作用, 具备抗生素作用的同时又克服了化学药的缺陷。Dong 等^[35]研究发现中药活性成分厚朴酚可通过抑制气单胞菌溶素编码基因 *aerA* 在低浓度下的转录, 抑制嗜水气单胞菌的溶血活性; 活性试验结果表明, 厚朴酚可显著降低通道鲢鱼因嗜水气单胞菌感染引起的死亡率。植物化学物质也具有杀菌、抑菌活性, 且在浓度低于抑制细菌生长的浓度下也能够抑制毒力因子。Syahidah 等^[36]通过薄层色谱-

生物自显影方法测定菱叶提取物的抑菌作用, 结果显示羟基沙蒿素和丁子香酚具有显著的抗菌活性, 菱叶的提取物或其化合物可以作为用于水产养殖疾病管理的有效天然抗菌剂的替代来源。另外, β -葡聚糖也可作为抗生素替代物防止水产品细菌性感染疾病的发生, Jung-Schroers 等^[37]研究发现以添加 β -葡聚糖的饲料喂养感染嗜水气单胞菌的鲤鱼, 其杯状细胞上填充的粘蛋白减少, 粘液明显从杯状细胞释放, 这可以保护性抵抗致病菌, 防止鲤鱼肠道感染。另外, Yildirim-Aksoy 等^[38]研究报道, 壳聚糖 (CS) 及其衍生物壳聚糖寡糖乳酸 (COL) 均可按照侵袭过程对嗜水气单胞菌表现出抗菌活性, 即从阻碍细菌吸附开始, 导致细胞内成分的泄漏至最终细胞凋亡。总之, 绿色养殖是未来发展趋势, 也是我国大力推进的重要方向。

3.2 联合用药延缓耐药性发生和提升药敏性

某种药物的抗性菌株通常对其他药物表现出抗性或易感性, 称为交叉耐药或超敏感性现象^[39-40], 抗生素之间的超敏感现象为联合用药提供思路。有研究表明^[41-42], 对氨基糖苷类如阿米卡星 (AMK) 等具有抗性的大肠杆菌菌株对其他类型的药物表现出更高敏感性, 包括 DNA 复制抑制剂喹诺酮类、细胞壁合成抑制剂 β -内酰胺类等; 相反, 对这些抗生素具有抗性的菌株也显示出对氨基糖苷类的高度易感性。转录组分析结果显示, 抗生素抗性之间的权衡机制是由质子动力 (PMF) 在细胞膜上的变化所引起, 氨基糖苷类抗性菌株中 PMF 降低可导致多药外排泵 AcrAB 活性降低, 进而对其他药物更敏感; 另一方面, 在对喹诺酮类和氯霉素等各种药物具有抗性的菌株中, 抗性是由 AcrAB 的活性增加引起, AcrAB 活化电子传输系统 (ETS) 以维持跨质膜的质子平衡, ETS 的激活导致对氨基糖苷类药物的高度易感性。同时使用这些药物组合可以抑制耐药性的发展。由此, 抑制电子转移系统或干扰质子动力

形成的化学物可能会抑制耐药性的出现及发展。

中药单体与抗生素联合,既可提高治疗效果、降低耐药菌的产生,又可保护环境、减少药物残留,弥补了中药和抗生素单味用药的不足。Bandeira 等^[43]研究了 5 种植物化学物质(香芹酚、柠檬醛、丁子香酚、芳樟醇和百里酚)单独使用及与氟苯尼考或土霉素组合对银鲈分离细菌的抗菌活性。棋盘分析(Checkerboard assay)结果显示,芳樟醇与氟苯尼考或土霉素联用对嗜水气单胞菌的抵抗作用呈现协同效应,且这些植物化学物质均可抑制由细菌引起的生物膜形成和溶血。卢静等^[44]的研究也表明,没食子酸和槲皮素对嗜水气单胞菌及温和气单胞菌具有显著的抑制作用,二者与恩诺沙星、诺氟沙星、氟苯尼考等抗生素联合应用具有相加或协同作用,有助于降低抗生素的用量及残留。上述研究成果均为控制嗜水气单胞菌在水产养殖中的危害提供新的思路 and 方向,也是未来水产动物健康养殖的主要趋势。

3.3 改善养殖的水域环境

水生环境是水产品耐药性出现和传播的重要背景。越来越多的证据表明,水生系统可作为耐药菌株和基因的潜在储存库,可重新进入临床或人体,即使在抗生素不存在的情况下也会导致复杂表型的出现;此外,水生系统充当了孵化器,为耐药菌和基因传播提供适宜条件。改善养殖环境水质、建立一个环境友好的水产养殖系统是防控耐药性发生的重要手段。Borgia 等^[45]研究表明鱼类长期暴露于 0.004%、0.007%、0.01% 和 0.013% 的电子工业废水中,其非特异性及特异性免疫应答能力均呈剂量依赖模式显著降低。Ying 等^[46]在中国台湾西南部建立了一个基于陆地、农场规模的多营养水产养殖(IMTA)系统,将鱼类、贝类与海藻共培养。试验结果表明,IMTA 系统中抗磺胺类药物表型菌株与初始海水中的数量相当,而传统农业系统中表现出更高的磺胺抗性。

此外,IMTA 系统可更好地维持细菌群落结构的完整性,代表一种维持海洋环境可持续性、具有潜在价值的水产养殖系统。采用最佳饲养条件,如控制饲料率、水溶氧、养殖密度和温度等可有效预防鱼类细菌性疾病的发生;另外,鱼类饮食也至关重要,保证蛋白质的充足供应以最大限度促进生长,并辅加维生素和微量元素用于控制疾病和调节鱼类的抗御能力,抵抗感染。

4 总结及展望

抑制耐药菌的产生及传播已成为全球性关注的热点问题。当前,缓解耐药性的方法主要聚焦于使用噬菌体、新型绿色天然药物研发、限制抗生素使用或优化联合用药方案等以增强现有抗生素杀菌效果。然而,目前新型抗菌药物的研制速度远比不上耐药菌产生速度,且持续开发新型药物极具挑战和难度;另外,替代药物的开发应用仍停留在实验研究阶段,且价格昂贵的替代药物不适宜推广应用。同时,相对于养殖环境,水体环境更为开放,防控难度更大。探究耐药成因、耐药机制以及药物联用的潜在协同作用,优化给药方案,延缓或削减现有及新型抗生素耐药性发生,这在短期内具有重大意义。

REFERENCES

- [1] Fernando NG, Antonio SP, Vidal JE, et al. EspC promotes epithelial cell detachment by enteropathogenic *Escherichia coli* via sequential cleavages of a cytoskeletal protein and then focal adhesion proteins. *Infect Immun*, 2014, 82(6): 2255–2265.
- [2] Yingxue Q, Guifang L, Wenbo C, et al. Flagellar motility contributes to the invasion and survival of *Aeromonas hydrophila* in *Anguilla japonica* macrophages. *Fish Shellfish Immunol*, 2014, 39(2): 273–279.
- [3] Qin Y, Lin G, Chen W, et al. Flagellar motility is necessary for *Aeromonas hydrophila* adhesion. *Microb Pathogenesis*, 2016, 98: 160–166.
- [4] Ghatak S, Blom J, Das S, et al. Pan-genome analysis of

- Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* and *Aeromonas caviae* indicates phylogenomic diversity and greater pathogenic potential for *Aeromonas hydrophila*. Anton Leeuw Int JG, 2016, 109(7): 945–956.
- [5] Wei G, Qian H, Zhiyong W, et al. Influence of antimicrobial consumption on Gram-negative bacteria in inpatients receiving antimicrobial resistance therapy from 2008–2013 at a tertiary hospital in Shanghai, China. Am J Infect Control, 2015, 43(4): 358–364.
- [6] Jiang X, Qin YX, Lin GF, et al. FlgN plays important roles in the adhesion of *Aeromonas hydrophila* to host mucus. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 6376–6386.
- [7] Aronsen GP, Beuerlein MM, Watts DP, et al. Redtail and red colobus monkeys show intersite urinary cortisol concentration variation in Kibale National Park, Uganda. Conserv Physiol, 2015, 3(1): 383–386.
- [8] Santos L, Ramos F. Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. Int J Antimicrob Agents, 2018, 52(2): 135–143.
- [9] Collignon P, Beggs JJ, Walsh TR, et al. Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: a univariate and multivariable analysis. Lancet Planet Health, 2018, 2(9): e398–e405.
- [10] Khor WC, Puah SM, Koh TH, et al. Comparison of clinical isolates of *Aeromonas* from Singapore and Malaysia with regard to molecular identification, virulence, and antimicrobial profiles. Microb Drug Resist, 2018, 24(4): 469–478.
- [11] Ramadan H, Ibrahim N, Samir M, et al. *Aeromonas hydrophila* from marketed mullet (*Mugil cephalus*) in Egypt: PCR characterization of β -lactam resistance and virulence genes. J Appl Microbiol, 2018, 124(6): 1629–1637.
- [12] de Silva BCJ, Hossain S, Dahanayake PS, et al. *Aeromonas* spp. from marketed Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*): Molecular characterization, phylogenetic analysis, virulence properties and antimicrobial susceptibility. J Appl Microbiol, 2019, 126(1): 288–299.
- [13] Hossain S, de Silva BCJ, Dahanayake PS, et al. Characterization of virulence properties and multi-drug resistance profiles in motile *Aeromonas* spp. isolated from zebrafish (*Danio rerio*). Lett Appl Microbiol, 2018, 67(6): 598–605.
- [14] Hossain S, de Silva BCJ, Wimalasena SHMP, et al. Distribution of antimicrobial resistance genes and Class 1 integron gene cassette arrays in motile *Aeromonas* spp. isolated from goldfish (*Carassius auratus*). Microb Drug Resist, 2018, 24(8): 1217–1225.
- [15] Zhang M, Yan Q, Mao L, et al. KatG plays an important role in *Aeromonas hydrophila* survival in fish macrophages and escape for further infection. Gene, 2018, 672: 156–164.
- [16] Shi Y, Zhang H, Tian Z, et al. Characteristics of ARG-carrying plasmidome in the cultivable microbial community from wastewater treatment system under high oxytetracycline concentration. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102(4): 1847–1858.
- [17] Fang YF, Pan XY, Lin LY, et al. Molecular mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas hydrophila*. Acta Microbiol Sin, 2014, 54(2): 174–182 (in Chinese). 方一风, 潘晓艺, 蔺凌云, 等. 嗜水气单胞菌对喹诺酮类药物耐药的分子机制. 微生物学报, 2014, 54(2): 174–182.
- [18] Collignon P, Beggs JJ, Walsh TR, et al. Anthropological and socioeconomic factors contributing to global antimicrobial resistance: a univariate and multivariable analysis. Lancet Planet Health, 2018, 2(9): e398–e405.
- [19] Fu J, Yang D, Jin M, et al. Aquatic animals promote antibiotic resistance gene dissemination in water via conjugation: role of different regions within the zebra fish intestinal tract, and impact on fish intestinal microbiota. Mol Ecol, 2017, 26(19): 5318–5333.
- [20] Alcaide E, Blasco MD, Esteve C. Mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas* species isolated from humans, water and eels. Res Microbiol, 2010, 161(1): 40–45.
- [21] Mathieu H, Séverine G, Michel F, et al. Role of the AheABC efflux pump in *Aeromonas hydrophila* intrinsic multidrug resistance. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52(4): 1559–1563.
- [22] Chenia HY, Jacobs A. Antimicrobial resistance, heavy metal resistance and integron content in bacteria isolated from a South African tilapia aquaculture system. Dis Aquat Organ, 2017, 126(3): 199–209.
- [23] Pu Y, Zhao Z, Li Y, et al. Enhanced efflux activity facilitates drug tolerance in dormant bacterial cells. Mol Cell, 2016, 62(2): 284–294.
- [24] Dwyer DJ, Belenky PA, Yang JH, et al. Antibiotics induce redox-related physiological alterations as part of their lethality. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(20): 2100–2109.
- [25] Lobritz MA, Peter B, Porter CBM, et al. Antibiotic

- efficacy is linked to bacterial cellular respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(27): 8173–8180.
- [26] Miller SI. Antibiotic resistance and regulation of the gram-negative bacterial outer membrane barrier by host innate immune molecules. *Mbio*, 2016, 7(5): e01541–16.
- [27] Heijden JVD, Reynolds LA, Deng W, et al. Salmonella rapidly regulates membrane permeability to survive oxidative stress. *Mbio*, 2016, 7(4): e1216–e1238.
- [28] Vila-Costa M, Gioia R, Aceña J, et al. Degradation of sulfonamides as a microbial resistance mechanism. *Water Res*, 2017, 115: 309–317.
- [29] Giri SS, Sukumaran V, Oviya M. Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish Shellfish Immunol*, 2013, 34(2): 660–666.
- [30] Lefurgy ST, Malashkevich VN, Aguilan JT, et al. Analysis of the structure and function of FOX-4 *Cephamycinase*. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(2): 717–728.
- [31] Jia X, Zhang J, Sun W, et al. Riboswitch control of aminoglycoside antibiotic resistance. *Cell*, 2013, 152(1/2): 68–81.
- [32] Yi Y, Zhang Z, Zhao F, et al. Probiotic potential of *Bacillus velezensis* JW: Antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and immune enhancement effects on *Carassius auratus*. *Fish Shellfish Immunol*, 2018, 78: 322–330.
- [33] Bustillo ME, Fischer AL, Labouyer MA, et al. Modular analysis of hipposin, a histone-derived antimicrobial peptide consisting of membrane translocating and membrane permeabilizing fragments. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1838(9): 2228–2233.
- [34] Le TS, Nguyen TH, Vo HP, et al. Protective effects of bacteriophages against *Aeromonas hydrophila* species causing motile aeromonas septicemia (MAS) in striped catfish. *Antibiotics*, 2018, 7(1): 16.
- [35] Dong J, Ding H, Liu Y, et al. Magnolol protects channel catfish from *Aeromonas hydrophila* infection via inhibiting the expression of aerolysin. *Vet Microbiol*, 2017, 211: 119–123.
- [36] Syahidah A, Saad CR, Hassan MD, et al. Phytochemical analysis, identification and quantification of antibacterial active compounds in betel leaves, piper betle methanolic extract. *Pak J Biol Sci*, 2017, 20(2): 70–81.
- [37] Jung-Schroers V, Adamek M, Jung A, et al. Feeding of β -1,3/1,6-glucan increases the diversity of the intestinal microflora of carp (*Cyprinus carpio*). *Aquacult Nutr*, 2016, 22(5): 1026–1039.
- [38] Yildirim-Aksoy M, Beck BH. Antimicrobial activity of chitosan and a chitosan oligomer against bacterial pathogens of warmwater fish. *J Appl Microbiol*, 2017, 122(6): 1570–1578.
- [39] Lejla I, Sommer MOA. Use of collateral sensitivity networks to design drug cycling protocols that avoid resistance development. *Sci Transl Med*, 2013, 5(204): 132r–204r.
- [40] Lázár V, Pal SG, Spohn R, et al. Bacterial evolution of antibiotic hypersensitivity. *Mol Syst Biol*, 2013, 9(1): 700.
- [41] Suzuki S, Horinouchi T, Furusawa C. Suppression of antibiotic resistance acquisition by combined use of antibiotics. *J Biosci Bioeng*, 2015, 120(4): 467–469.
- [42] Suzuki S, Horinouchi T, Furusawa C. Prediction of antibiotic resistance by gene expression profiles. *Nat Commun*, 2014, 5(5): 5792.
- [43] Bandeira JG, Sutili FJ, Gressler LT, et al. Antibacterial potential of phytochemicals alone or in combination with antimicrobials against fish pathogenic bacteria. *J Appl Microbiol*, 2018, 125(3): 655–665.
- [44] Lu J, Wang ZN, Chen R, et al. *In vitro* antibacterial activity of several Chinese medicine monomers and antibiotics on *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria*. *J Aquatic Biol*, 2013, 37(6): 1128–1132 (in Chinese). 卢静, 王振宁, 陈锐, 等. 几种中药单体和抗生素对嗜水气单胞菌及温和气单胞菌的体外抑菌活性研究. *水生生物学报*, 2013, 37(6): 1128–1132.
- [45] Borgia VJF, Thatheyus AJ, Murugesan AG, et al. Effects of effluent from electopating industry on the immune response in the freshwater fish, *Cyprinus carpio*. *Fish Shellfish Immunol*, 2018, 79: 86–92.
- [46] Ying C, Chang MJ, Hu CH, et al. The effects of marine farm-scale sequentially integrated multi-trophic aquaculture systems on microbial community composition, prevalence of sulfonamide-resistant bacteria and sulfonamide resistance gene *sul1*. *Sci Total Environ*, 2018, 643: 681–691.

(本文责编 陈宏宇)