

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



СЕДОВА ДАРЬЯ АНДРЕЕВНА

ОЦЕНКА МИКРОБИОМОВ
И СОДЕРЖАНИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В
ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

1.5.15. Экология (биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук, Сазыкин Иван Сергеевич

Ростов-на-Дону – 2026

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1 Сточные воды как антропогенный фактор воздействия на водные экосистемы.....	13
1.1.1 Структура микробоценозов на разных этапах очистки сточных вод и факторы, определяющие их популяционную динамику.....	17
1.1.2 Микробоценозы сточных вод и поверхностных водоемов как резервуар возникновения и распространения антибиотикорезистентности ..	23
1.2 Мониторинг АРГ в водных экосистемах.....	25
1.2.1 Источники и пути поступления АРГ в водные экосистемы.....	25
1.2.2 Механизмы передачи АРГ между бактериями	29
1.2.3 Факторы, влияющие на горизонтальный перенос генов	32
1.3 Экотоксикологический мониторинг водных экосистем	36
ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ	41
ГЛАВА 3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	43
3.1 Таксономическое профилирование микробиомов проб сточных вод с помощью секвенирования гена 16S рРНК.....	43
3.1.1 Экстракция и оценка качества метагеномной ДНК	43
3.1.2 Амплификация гена 16S рРНК.....	43
3.1.3 Подготовка библиотек и секвенирование	44
3.1.4 Биоинформатическая и статистическая обработка данных секвенирования.....	44
3.2 Выделение и идентификация бактерий	46
3.2.1 Выделение бактерий из проб воды и их идентификация по культуральным, тинкториальным и биохимическим свойствам	46

3.2.2 MALDI–TOF масс-спектрометрическая идентификация бактерий	47
3.3 Количественная оценка содержания генов устойчивости к антибиотикам и интегронов методом ПЦР в реальном времени	47
3.3.1 Выделение метагеномной ДНК проб воды и геномной ДНК бактерий методом фенол-хлороформной экстракции	47
3.3.2 Амплификация АРГ и интегронов	48
3.4 Оценка экотоксичности проб воды с использованием батареи цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров.....	52
3.4.1 Штаммы бактерий lux-биосенсоров и условия их культивирования	52
3.4.2 Постановка теста и определение фактора индукции и индекса токсичности.....	53
3.5 Статистическая обработка данных.....	56
ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	57
4.1 Метапрофилирование микробиомов очистных сооружений канализации	57
4.2 Содержание АРГ и интегронов в микробиомах очистных сооружений канализации.....	70
4.3 Определение экотоксикологических эффектов проб сточных вод и поверхностных водоемов в местах сброса КОС	77
4.4 Взаимосвязь между таксономическим составом, содержанием АРГ и интегронов в микробиомах сточных вод	82
4.5 Содержание АРГ и интегронов в микробиомах воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова.....	84
4.6 Определение экотоксикологических эффектов проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова.....	91

4.7 Взаимосвязь между содержанием АРГ и интегронов в микробиомах проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова	96
ГЛАВА 5 ВЫВОДЫ	99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	102
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	136
Приложение А. Места и даты отбора исследуемых проб воды.....	136
Приложение Б. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге класса во всех исследованных пунктах отбора проб воды.....	138
Приложение В. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге порядка во всех исследованных пунктах отбора проб воды.....	139
Приложение Г. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге семейства во всех исследованных пунктах отбора проб воды.	140
Приложение Д. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге вида во всех исследованных пунктах отбора проб воды.....	141
Приложение Е. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге вида с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.....	142
Приложение Ж. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге семейства с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.....	143
Приложение И. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге порядка с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.....	144
Приложение К. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в микробиомах проб воды очистных сооружений канализации (копий генов/16SpPHK).....	145

Приложение Л. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов проб воды очистных сооружений канализации (копий генов/16SpPHK).....	146
Приложение М. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK).....	148
Приложение Н. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK).	150
Приложение П. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон в акватории г. Азова (копий генов/16SpPHK)	151
Приложение Р. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон в акватории г. Азова (копий генов/16SpPHK).....	152
Приложение С. Экотоксикологические параметры проб воды очистных сооружений канализации.....	153
Приложение Т. Экотоксикологические параметры проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова.....	157
Приложение У. Экотоксикологические параметры проб воды реки Дон в акватории г. Азова.....	159

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследований. Сточные воды являются одним из основных источников антропогенного загрязнения водных экосистем. На протяжении последних десятилетий помимо традиционно изучаемых загрязнителей все большее внимание привлекает изучение содержания генов резистентности к антибиотикам (АРГ), которые были признаны новым классом загрязнителей (Drane et al., 2024). Микробная резистентность к антибиотикам остается нерешенной проблемой, несмотря на усилия мирового сообщества (CDC, 2025). С появлением новых исследований в области резистенции становится ясно, что возникновение и распространение антибиотикорезистентности - явление гораздо более глубокое и сложное, чем просто следствие неконтролируемого использования антибиотиков, и в этом процессе естественные и антропогенные экосистемы, включая сточные воды, играют значительную роль (Selvarajan et al., 2021).

Сточные воды содержат огромное разнообразие микроорганизмов, включая антибиотикорезистентные бактерии (АРБ), и являются естественным резервуаром для множества АРГ (Barancheshme, Munir, 2018). Структура микробного сообщества сточных вод отражает сложность их источников: поступление из коммунальных, коммерческих, медицинских и промышленных объектов (Numberger et al., 2019). Особое внимание привлекают гены интеграз (*intI1*, *intI2*, *intI3*), которые считаются маркерами ГПП и антропогенного загрязнения (Emamgholitabar Malekshah et al., 2025). Они обеспечивают перенос нескольких генов, обуславливающих резистентность к различным классам веществ (Soni et al., 2024).

Экотоксичность сточных вод представляет значительный риск для экосистем и здоровья человека. Сложность состава сточных вод и взаимодействие между различными компонентами затрудняют оценку их токсичности с помощью только химического анализа. Интегрированный подход к оценке экотоксичности, основанный на использовании батареи цельноклеточных бактериальных биосенсоров предлагается как достаточно

эффективный метод биотестирования для получения более полной оценки рисков, связанных со сбросом сточных вод в окружающую среду (Wang et al., 2021; Cheliukanov et al., 2025).

Таким образом, сточные воды представляют собой комплексный источник загрязнения, объединяющий наличие резистентной микрофлоры с высоким содержанием АРГ к разным классам антибактериальных препаратов и токсикантов, которые способны влиять на селективное давление внутри микробного сообщества, способствуя обмену АРГ между бактериями.

Цель работы. Комплексная оценка микробных сообществ, содержания генов антибиотикорезистентности и интегронов, а также экотоксикологических характеристик сточных вод канализационных очистных сооружений (КОС) и поверхностных водоемов Ростовской области.

Задачи исследований.

1. Охарактеризовать таксономический состав и показатели альфа- и бета-разнообразия микробных сообществ сточных вод на разных этапах очистки очистных сооружений ряда городов Ростовской области, и поверхностных вод в местах сброса методом высокопроизводительного секвенирования.

2. Определить относительное содержание генов антибиотикорезистентности (АРГ) и интеграз 1, 2, 3 классов в тотальной ДНК сточных вод и поверхностных водоемов (р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону, р. Дон в акватории г. Азова), а также в геномной ДНК выделенных из них условно-патогенных (УПМ) и патогенных бактерий (АРБ).

3. Оценить интегральную токсичность, генотоксичность, прооксидантные свойства, эффекты повреждения белков и нарушения целостности клеточных мембран, индукции кворум-сенсинга в сточных и поверхностных водах с использованием батареи цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров.

4. Проанализировать статистические взаимосвязи между структурой микробных сообществ, содержанием АРГ и интегронов.

Защищаемые положения.

1. Доминирующими типами бактерий микробных сообществ сточных и поверхностных вод исследуемого региона являются: Pseudomonadota (100% проб), Bacillota I (92 %), Actinomycetota (84 %), при заметном вкладе Bacillota_A_368345 (64 %), Bacteroidota (64 %), Planctomycetota (56 %), Verrucomicrobiota (60 %), Patescibacteria (56 %) и Cyanobacteriota (8 % исследуемых проб, но с высокой относительной численностью) в ряде проб. Представители типа Pseudomonadota имеют более высокую относительную численность в весенне-летний сезон, а Bacillota I/Actinomycetota - в осенний.

2. В тотальной ДНК воды и геномной ДНК бактерий отмечено высокое содержание генов интеграз 1 класса (*intI1*) и генов *tetO*, *sul2*, *aadA2*, *ermB*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{VIM}*. В процессе очистки сточных вод содержание генов бета-лактамаз не изменялось. Гены *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{NDM}*, *mphA*, *bla_{CTX-M}*, *mecA* реже встречались в акватории г. Ростова-на-Дону в отличие от г. Азова.

3. При определении бактериальными lux-биосенсорами наиболее токсичными оказались неочищенные сточные воды КОС г. Аксая, Сальска и Таганрога, а также пробы активного ила КОС г. Новошахтинска. Эффекты генотоксичности, повреждения мембран и интегральная токсичность проб воды р. Дон в г. Азове превышают токсичность воды р. Дон в г. Ростове-на-Дону.

4. Присутствуют статистически значимые корреляции между генами интеграз и отдельными генами резистентности как в бактериальных культурах, так и в тотальной ДНК проб воды. Положительные значимые корреляции выявлены между *intI1* и генами *aadA2*, *sul2*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{VIM}*, *mecA*, *tetO*; *intI2* и *aadA2*, *sul2*, *mecA*; *intI3* и *aadA2*, *bla_{VIM}*, *sul2*, *tetO*.

Научная новизна и теоретическая значимость. В работе впервые установлен таксономический состав микробиомов очистных сооружений на разных этапах очистки на Юге России. Впервые определены основные функциональные таксоны активного ила, а также сезонные закономерности динамики относительной бактериальной численности. Впервые выявлен

широкий спектр АРГ и генов интеграз 1, 2, 3 классов в метагеномной ДНК образцов воды и у культивируемых форм бактерий, изолированных из проб сточных вод на разных этапах очистки и поверхностных водоемов бассейна р. Дон. Впервые определены экотоксикологические эффекты сточных вод на разных этапах очистки, в том числе, для проб активного ила. Полученные взаимосвязи между обнаружением АРГ и интегронов вносят вклад в понимание механизмов мобилизации и распространения антибиотикорезистентности в водных экосистемах.

Практическая значимость. С помощью батареи из 8 цельноклеточных lux-биосенсоров впервые проведено биотестирование токсичности сточных вод на разных этапах очистки. Данные по экотоксичности могут быть использованы для поиска источника загрязнения. Полученные данные определения распространения АРГ и интегронов в метагеномной ДНК образцов воды и штаммов условно-патогенных микроорганизмов могут быть использованы санитарными службами при проведении мониторинга антибиотикорезистентности в Южном федеральном округе.

Материалы работы используются при чтении лекций и проведении практических занятий по курсам «Методы бактериологии», «Экологическая биохимия», «Бактериальные трансформации поллютантов» в Академии биологии и медицины им. Д. И. Ивановского ЮФУ, а также в рамках дисциплин «Микробиология» и «Микробиология и вирусология с основами эпидемиологии» на факультете «Биоинженерия и ветеринарная медицина» ФГАОУ ВО ДГТУ.

Личный вклад автора. Все экспериментальные работы, кроме метагеномного секвенирования, выполнены лично автором. Постановка цели и задач исследования, формулировка положений, выносимых на защиту определены совместно с научным руководителем. Обобщение результатов, анализ данных, формулировка выводов, выносимых на защиту, произведены автором лично. Научные публикации подготовлены самостоятельно под руководством научного руководителя.

Степень достоверности результатов исследования. Степень достоверности полученных результатов подтверждается применением современных методов при исследовании таксономического состава (высокопроизводительное секвенирование), идентификации культивируемых форм бактерий (временная масс-спектрометрия), детекции АРГ (ПЦР в реальном времени), оценке экотоксикологических эффектов (биотестирование с помощью цельноклеточных lux-биосенсоров) проб. Для обработки данных применяли современные методы статистического анализа.

Апробация работы. Результаты исследований, представленные в диссертационной работе, доложены и обсуждены на XVI, XVII, XVIII Всероссийской научно-практической с международным участием конференции «Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 2021, 2022, 2023); на I и II Международной конференции «Экология родного края: проблемы и пути их решения» (Киров, 2024, 2025); на XXI, XXIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биодиагностика состояния природных и природно-техногенных систем» (Киров, 2023, 2025); на Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на Юге России. Ермольевские чтения» (Ростов-на-Дону, 2021, 2022, 2023); на XIV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» (Москва, 2022).

Соответствие паспорту специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.5.15 Экология, прежде всего, пункту 4: Экология сообществ, биоценология. Состав, структура, динамика, факторы формирования и регуляции сообществ. Экологические ниши. Также работа соответствует пункту 10: Антропогенное воздействие на популяции, сообщества и экосистемы. Биологические эффекты загрязнения среды (экотоксикология). Разработка биологических методов и критериев оценки

состояния среды, биоиндикация, биотестирование, биомониторинг. Разработка экологически обоснованных норм воздействия хозяйственной деятельности человека на живую природу.

Публикации. По материалам работы опубликовано 4 статьи журналах, входящих в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК, из которых 1 – в журнале, индексируемом Web of Science и Scopus. Опубликовано 11 работ в других рецензируемых изданиях и материалах научно-практических конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, глав, выводов, списка литературы, содержит приложения. Работа изложена на 160 страницах машинописного текста, содержит 3 таблицы, 22 рисунка, 18 приложений. Список использованной литературы включает 259 источников, в том числе 221 на иностранных языках.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках следующих проектов: госзадание № FENW-2024-0026 «Оценка экотоксикологических характеристик, присутствия клинически значимых генов антибиотикорезистентности и микробного углеводород-деградирующего потенциала донных отложений прибойной зоны побережья Азовского моря в Ростовской области» (рег. № 124102500899-3), госзадание № FENW-2026-0025 «Оценка экологических рисков восточного побережья Азовского моря в связи с планами развития рекреационной инфраструктуры» (рег. № 126021617430-9)».

Благодарности. Автор выражает глубокую признательность за поддержку, помощь и ценные рекомендации своему научному руководителю, д.б.н., в.н.с., профессору кафедры биохимии и микробиологии, И.С. Сазыкину; заведующему лабораторией экологии и молекулярной биологии микроорганизмов ЮФУ, д.б.н., доценту М.А. Сазыкиной и сотрудникам руководимой ею лабораторией за сотрудничество и помощь в экспериментальных исследованиях; д.м.н., профессору кафедры общей

гигиены РостГМУ, П.В. Журавлёву, за сотрудничество и ценные рекомендации при планировании исследования. Автор также выражает благодарность к.б.н., И.В. Попову, ФГБУ ВО ДГТУ; И.С. Березинской, м.н.с РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, за оказанное содействие и помощь при проведении экспериментов.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Сточные воды как антропогенный фактор воздействия на водные экосистемы

Сброс очищенных сточных вод (СТВ) канализационных очистных сооружений (КОС) крупных городов и промышленных агломераций относится к одним из ведущих антропогенных факторов, которые трансформируют микробные сообщества природных водных экосистем (Lu et al., 2022). Сброс СТВ в поверхностные водные объекты сопровождается изменением гидрохимического режима, повышением содержания биогенных элементов, как следствие – повышение трофности, накоплением ксенобиотиков, поступлением представителей аллохтонной микрофлоры (как условно-патогенной, так и патогенной), стимуляция процессов эвтрофикации (Olano et al., 2019; Preisner et al., 2021). Наиболее уязвимы участки водных объектов непосредственно в зоне выпуска хозяйственно-бытовых, промышленных и медицинских стоков (Preisner et al., 2021). На данных участках формируются локальные градиенты загрязнения биогенными элементами, тяжелыми металлами, микрополлютантами (фармацевтические препараты, пестициды, промышленные химикаты, наночастицы и т.д.), а также бактериями и вирусами, являющимися индикаторами фекального загрязнения (*Escherichia coli* и другие представители порядка *Enterobacterales*, энтерококки, колифаги) (Kostich et al., 2014; Preisner et al., 2021; Zhuravlev et al., 2022; Matuszewska et al., 2025).

По происхождению различают дождевые, талые, инфильтрационные поливомоечные, СТВ централизованной системы водоотведения (коммунально-бытовые СТВ), промышленные и т.д. По степени содержания загрязняющих веществ СТВ делятся на: загрязненные, недостаточно очищенные, нормативно-очищенные и условно-чистые (Федеральный закон «О водоснабжении и водоотведении» от 07.12.2011 N 416-ФЗ; Постановление Правительства РФ от 22.05.2020 N 728 (ред. от 28.11.2023, с изм. от 24.03.2025) «Об утверждении Правил осуществления контроля состава и свойств сточных

вод и о внесении изменений и признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации»; ГОСТ Р 59053-2020). Основную угрозу для нарушения состояния аутохтонной микрофлоры и естественного круговорота веществ в водоеме-приемнике представляют загрязненные и недостаточно очищенные СТВ, в которых содержание предельно допустимых сбросов (ПДС) превышает нормативные значения для определяемых показателей (ГОСТ Р 56828.35-2018).

Коммунально-бытовые СТВ после очистки с помощью КОС сбрасываются в природные поверхностные водные объекты к которым относят: моря, водотоки (реки, ручьи, каналы), водоемы (озера, пруды, водохранилища) («Водный кодекс Российской Федерации» от 03.06.2006 N 74-ФЗ). Хозяйственно-бытовые стоки содержат высокие концентрации азота, фосфора, легкоокисляемых органических соединений, поверхностно-активных веществ (ПАВ), фенолов, тяжелых металлов, антибиотиков (Murray et al., 2024). Накопление поллютантов химического происхождения в результате сброса недостаточно очищенных СТВ в приемные водоемы изменяет видовой состав гидробионтов, формируются условия для накопления токсичных метаболитов в трофических цепях, а также, приводит к неблагоприятной санитарно-эпидемиологической обстановке водоема (Ашихмина и др., 2014; Сазыкин и др., 2020).

Технологическая схема очистки канализационных вод на КОС включает механическую, биологическую очистку, а при необходимости, химическую доочистку с помощью внесения дезинфектантов для элиминации условно-патогенной (УПМ) и патогенной микрофлоры, а также антипаразитарных препаратов. На стадии механической очистки (песколовки, первичные отстойники) удаляются крупные взвешенные частицы и часть взвеси, ассоциированной с органическими веществами, растворенные вещества и микробиота остаются в потоке воды. Следующий этап – биологическая очистка, которая реализуется в биореакторах (аэротенках). В биореакторах происходит окисление растворенных и коллоидных органических веществ,

процессы нитрификации, аммонификации, денитрификации, анаммокс-процессы, накопление и гидролиз полифосфатов. На заключительных стадиях снижается содержание взвешенных веществ во вторичных отстойниках, остаточной органики с помощью фильтров доочистки, химическая (хлорсодержащие соединения, средства для дегильминтализации, озонирование) и физическая дезинфекция ультрафиолетом. После очистки СТВ сбрасываются в водоемы, либо направляются на повторное использование (СП 32.13330.2018).

Центральным элементом большинства КОС являются биореакторы, в которых реализуются процессы биохимической очистки, - аэротенки. Процессы окисления и минерализации органических соединений осуществляются при участии активного ила (АИ) аэротенков. Он представляет собой взвешенное в воде микробное сообщество в виде хлопьев (флоккул), в состав которого входят как бактерии и археи, так и грибы, простейшие, беспозвоночные (Zhang et al., 2020). Бактериальный компонент АИ обеспечивает основные функциональные свойства, благодаря постоянной аэрации биореакторов и насыщения среды кислородом для протекания окислительных процессов и нитрификации. Тем не менее, помимо аэробных условий, внутри флоккул АИ возникают анаэробные ниши, в которых протекают денитрификация и анаммокс-процессы (Morgan-Sagastume et al., 2008; McIlroy et al., 2014; Fang et al., 2019; Singleton et al., 2022; Li et al., 2024). Поддержание времени илового удерживания и аэрации позволяет формировать структуру микробных сообществ АИ, нарушение режима работы аэротенков приводит к дисбалансу между функциональными метаболическими группами бактерий (ГОСТ Р 32537-2013). Это может повлиять на ухудшение показателей биологической очистки и повышению нагрузки ПДС на водоемы-приемники.

Эффективность очистки СТВ определяется согласно нормативным документам, действующим на территории Российской Федерации по следующим показателям: органолептические показатели (запах, привкус,

мутность, цветность), обобщенные (рН, жесткость, общая минерализация, перманганатная окисляемость), санитарно-микробиологические и паразитологические показатели, а также предельно-допустимые концентрации (ПДК) по десяткам химических веществ (тяжелые металлы, нефтепродукты, нитраты/нитриты, фенолы, поверхностно-активные вещества (ПАВ) и др.) (СанПиН 2.1.3684-21; СанПиН 1.2.3685-21). Тем не менее, несмотря на то, что сточные воды являются одним из источников поступления антибиотиков в водные объекты, для очищенных СТВ прямых ПДК не установлено. В СанПиН 1.2.3685-21 введены ПДК ряда антибиотиков (в том числе амоксициллина, ампициллина, азитромицина, кларитромицина, ципрофлоксацина и т.д.) именно для воды водных объектов и питьевой воды. Эти значения (порядка 10^{-4} – 10^{-5} мг/л для большинства антибиотиков) используются как целевые для определения качества воды в поверхностных водоемах и водотоках после сброса СТВ.

По данным Росстата за 2021 и 2022 гг суммарный объем сброса загрязненных СТВ в поверхностные водные объекты составил 11,6 и 11,3 млрд м³ в год, соответственно (<https://rosstat.gov.ru/folder/11194>). При этом с 1993 года наблюдается значительное снижение сброса СТВ почти вдвое: с 27,2 до 11,3 млрд м³ ежегодно, однако, остается значительным. Наибольший объем загрязненных СТВ поступает в бассейны Каспийского моря и реки Волги. Ростовская область не является ведущим регионом по объему загрязненных стоков, в бассейн реки Дон в 2018-2022 гг. ежегодный выпуск составлял порядка 0,5 млрд м³ в год. Тем не менее, по данным Государственного доклада «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2024 году», бассейн реки Дон в акватории Ростовской области характеризуется высокой долей поверхностных водных объектов, относимых к «грязным» и «загрязненным» по данным Минприроды РФ. По данным Росводресурсов на 2024 г., доля сбрасываемых нормативно чистых СТВ в РФ составила 63,1%, загрязненных - 23,6%, нормативно чистых - 13,4%.

Вода реки Дон в устьевом участке в течение 2017-2022 гг. Ниже Ростова-на-Дону характеризовалась как «грязная», а в 2023 г. как «загрязненная». К характерным загрязняющим веществам устьевых участков относились сульфаты, органические вещества и нефтепродукты, а в створах г. Азова – нитритный азот. Отдельным фактором, влияющим на состояние поверхностных водных объектов региона, является их водность. По данным ресурсов речного стока Южного федерального округа показано, что в акватории Ростовской области отклонение от среднего многолетнего значения водных ресурсов составило -13%. Сокращение водности рек усиливает последствия сброса СТВ за счет меньшего разбавления поллютантов (Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2024 году»).

Статистические данные по анализу загрязненности водных объектов Ростовской области показывают, что несмотря на сокращение сброса загрязненных СТВ, уровень загрязнения остается стабильно высоким.

1.1.1 Структура микробоценозов на разных этапах очистки сточных вод и факторы, определяющие их популяционную динамику

Микробные сообщества сточных вод и очистных сооружений представляют собой сложные многокомпонентные консорциумы прокариот, микроскопических грибов, водорослей и простейших, формирующиеся под действием градиентов трофности, окислительно-восстановительных условий и гидродинамических параметров (Епифанов и др., 2014; Ножевникова и др., 2019). В процессе прохождения сточных вод через последовательные ступени очистки происходит смена доминирующих трофических групп микроорганизмов и перестройка таксономической структуры сообществ, что во многом определяет эффективность биологической трансформации органических и неорганических загрязнителей (Миронов и др., 2020). На каждой из стадий – от сырого канализационного стока до очищенного – формируется характерный для данного биотопа микробоценоз,

адаптированный к специфическим условиям среды и составу субстрата (Джумагулова и др., 2019).

В неочищенных сточных водах в приемной камере на входе в КОС микробное сообщество определяется, прежде всего, составом хозяйственно-бытовых и промышленных стоков и включает широкий спектр аутохтонных и аллохтонных микроорганизмов (Бойченко, 2019). В высокозагрязненных канализационных водах, как правило, среди культивируемых форм бактерий доминируют представители семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, а также неферментирующие грамотрицательные бактерии родов *Pseudomonas* (например, *P. aeruginosa*) и *Acinetobacter* (Zagainova et al., 2020; Седова и др., 2025). Существенную долю микробного сообщества составляют фекально-индикаторные энтерококки (*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*), облигатно-анаэробные представители *Bacteroidota*, связанные с кишечной микробиотой человека и животных, и сульфатредуцирующие бактерии родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum* (Matlou et al., 2019; Niestępski et al., 2020; Verkholiak et al., 2020). Для этой стадии характерны высокие показатели общей микробной численности и видового богатства при относительно низкой равномерности, обусловленной преобладанием таксонов, которые относятся к фекальной и почвенной микробиоте, устойчивой к высокой органической нагрузке и присутствию токсикантов (McLellan et al., 2010).

В зонах механической и первичной отстойной очистки происходит частичное снижение микробной численности за счет осаждения взвешенных частиц, однако качественный состав сообществ сохраняет основные таксоны неочищенных СТВ (Gu et al., 2022). В осадке первичных отстойников концентрируются анаэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, способные к ферментации сложных органических субстратов, в том числе представители родов *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella*, а также метаногенные археи родов *Methanosaeta* и

Methanobacterium в анаэробных условиях (Calderón et al., 2013; Cyprowski et al., 2018; Zhang et al., 2020). На этой стадии усиливается роль бактерий, обеспечивающих гидролиз полисахаридов, белков и липидов, что подготавливает органический субстрат к дальнейшей биологической очистке.

Наиболее выраженная структурная дифференциация микробных сообществ наблюдается на стадии биологической очистки, где формируется АИ как функционально-активный техногенный биоценоз. Активный ил представляет собой высокоорганизованную пространственно структурированную систему, включающую бактериальные клетки, колонизирующие органо-минеральный матрикс, экзополисахаридный матрикс биопленок, вирусы, микроскопические грибы, простейшие и многоклеточные беспозвоночные (коловратки, нематоды) (Zhang et al., 2020). Основу бактериальной фракции активного ила составляют представители филумов Proteobacteria (классы Alpha-, Beta-, Gammaproteobacteria), Bacteroidota, Firmicutes, Actinobacteriota и Chloroflexi (Xu et al., 2018). Среди них важную роль играют нитрифицирующие бактерии родов *Nitrosomonas* и *Nitrospira* (аммоний-окисляющие) и *Nitrospira* (нитрит-окисляющие), а также денитрифицирующие микроорганизмы родов *Paracoccus*, *Thauera*, *Pseudomonas*, *Dechloromonas* (Morgan-Sagastume et al., 2008; Fang et al., 2019; Li et al., 2024). В системах усиленного удаления фосфора значимы полифосфат-аккумулирующие организмы, относимые к родам *Candidatus Accumulibacter* и *Tetrasphaera*, тогда как гликоген-аккумулирующие организмы представлены, в частности, *Candidatus Competibacter* (McIlroy et al., 2014; Singleton et al., 2022).

В формировании пространственной структуры хлопьев активного ила существенную роль играют филаментные бактерии, обладающие развитым экзополисахаридным матриксом и способностью к образованию флоккул. К числу типичных флокулирующих микроорганизмов относят представителей родов *Zoogloea* и *Thauera*, а также ряд представителей семейств *Rhodocyclaceae* и *Comamonadaceae*, которые за счет синтеза

экзополисахаридов обеспечивают агрегацию клеток и сорбцию коллоидных и растворенных поллютантов (Gao et al., 2022; Maheepala et al., 2023). В структуре флоккул АИ нередко обнаруживают нитчатые формы, такие как *Microthrix parvicella*, *Nocardia*-подобные актинобактерии, а также представители морфотипов *Type 021N* и *Sphaerotilus*, которые, с одной стороны, участвуют в формировании каркаса биопленок, а с другой – при чрезмерном развитии могут нарушать седиментационные свойства ила и вызывать явление пенообразования (Madoni et al., 2000; Lu et al., 2023).

Отдельный функциональный блок микробиома АИ и анаэробных зон КОС составляют бактерии, реализующие процессы анаэробного окисления аммония (анаммокс-процессы) (Kleerebezem, Lückner, 2021). К числу анаммокс-бактерий АИ относятся представители типа Planctomycetota родов *Candidatus Brocadia*, *Candidatus Kuenenia* и *Candidatus Anammoxoglobus*, способные окислять аммоний нитритом с образованием N_2 (Khalidi-Idrissi et al., 2023; Yang et al., 2025). Эти микроорганизмы формируют микроколонии внутри флоккул ила, где поддерживаются пониженные концентрации кислорода и соответствующий редокс-потенциал (Inniss, 2005). Присутствие и активность анаммокс-бактерий в структуре биоценоза АИ существенно расширяют возможности биологического удаления связанного азота, снижая потребность в органическом субстрате для денитрификации и повышая общую эффективность удаления азотсодержащих соединений (Liu et al., 2024).

На стадии вторичного отстаивания и формирования очищенных СТВ микробное сообщество претерпевает дальнейшие изменения в направлении снижения общей численности и органической нагрузки при сохранении видового разнообразия (Darra et al., 2023). В очищенных СТВ снижается доля типичных представителей активного ила, в то время как возрастает относительное содержание планктонных и оппортунистических форм, способных существовать при пониженной концентрации субстрата, таких как отдельные представители родов *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Sphingomonas*, а также остаточные популяции представителей семейств *Enterobacteriaceae* и

Enterococcaceae (Vandewalle et al., 2012; Kamika, Tekere, 2017). В очищенных СТВ и водоемах-приемниках нередко выявляются как санитарно-показательные микроорганизмы (*E. coli*, *Enterococcus*) так и условно-патогенные бактерии (например, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*), а также носители клинически-значимых генов устойчивости к антибиотикам (Загайнова и др., 2022; Седова и др., 2025).

Формирование структуры микробных сообществ СТВ и АИ определяется совокупным действием абиотических, биотических и антропогенных факторов. К числу ключевых технологических параметров относят время гидравлического и илового удерживания, конфигурацию биологической линии, уровень растворенного кислорода, pH среды, а также соотношение концентраций органического углерода и азота, возраст АИ (Швецов, Морозова, 2013; Красильникова, Шергина, 2018). Изменение указанных параметров приводит к сдвигу трофических ниш и перераспределению доминирующих трофических групп – нитрификаторов, денитрификаторов, полифосфат- и гликоген-аккумулирующих организмов, а также облигатных анаэробов, реализующих анаммокс- и сульфатредукцию.

Существенное влияние на таксономический состав и динамику микробиоты сточных вод оказывает температурный режим. Сезонные колебания температуры канализационных вод в приемной камере очистных сооружений и объемов сброса, очищенных СТВ обуславливают отличия в скорости протекания метаболических процессов микробиомов КОС. Это влияет на скорость роста и соотношение между психротолерантными, мезофильными и термотолерантными микроорганизмами. При температуре ниже 15°C снижается скорость процессов нитрификации, денитрификации, что сопровождается уменьшением численности нитритокисляющих таксонов (Stratton et al., 2024). Это сопровождается увеличением психрофильных нитрификаторов (*Nitrotoga*), а также повышением психрофильных филаментных форм (*M. parvicella*, *Trichococcus*, *Kouleothrix*, *Nostocoida limicola*) (Wang Jie et al., 2016; Griffin, Wells, 2017; Nittami et al., 2020; Kim et

al., 2021; Wágner et al., 2022). В то же время низкие температуры зачастую способствуют более длительному сохранению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов во внешней среде, что отражается на микробиологических показателях очищенных СТВ (Li et al., 2025).

Отдельную группу факторов составляют химические поллютанты, присутствующие в сточных водах: остаточные концентрации антибиотиков и других противомикробных препаратов, тяжелые металлы, ПАВ, биоциды, ксенобиотики промышленного происхождения (Murray et al., 2024). Низкие, субингибирующие уровни антибиотиков различных классов, характерные для хозяйственно-бытовых и медицинских СТВ, создают селективное давление, способствующее отбору и поддержанию популяций бактерий, несущих АРГ, в том числе локализованные на плазидах, транспозонах и интегронах (Xiong et al., 2015; Smyth et al., 2025). Аналогичным образом ионы тяжелых металлов и наночастицы оксидов металлов могут индуцировать механизмы коселекции, действуя через индукцию систем эффлюкс-насосов и стресс-ответов, сопряженных с формированием множественной лекарственной устойчивости (Zhang et al., 2018; Gillieatt, Coleman, 2024; Murray et al., 2024).

Помимо растворенных поллютантов, важную роль в формировании микробиома сточных вод играют взвешенные и поверхностно-активные субстраты, такие как частицы микропластика, коллоидные органоминеральные комплексы и естественные твердые субстраты (Luo et al., 2023; Liu et al., 2024). Гидрофобные поверхности микропластика способствуют развитию сообществ биопленок, отличающихся по составу от планктонной микробиоты и служащих потенциальными «горячими точками» ГПП и накопления АРГ. Наличие микропластика может изменять пространственную организацию биоценозов, усиливая роль флокулирующих и биопленочных форм и влияя на функциональные способности активного ила к очищению (Liu et al., 2024).

Таким образом, для каждого этапа технологической цепочки очистки сточных вод характерно формирование специфической структуры микробных

сообществ, отражающей сочетание физико-химических параметров среды, характера субстратов и технологических режимов. Последовательная смена доминирующих таксонов от фекально-контаминированных микробоценозов канализационных СТВ к функционально-активным консорциумам АИ и далее сообществам очищенных СТВ определяет, как эффективность элиминации поллютантов и биогенов, так и таксономический состав микробиомов в экосистемах водоемов-приемников.

1.1.2 Микробоценозы сточных вод и поверхностных водоемов как резервуар возникновения и распространения антибиотикорезистентности

Водные экосистемы, испытывающие влияние коммунальных и промышленных СТВ, рассматриваются в настоящее время как важный экологический резервуар АРБ и АРГ (Numberger et al., 2019). По данным многочисленных исследований, системы водоотведения и очистные сооружения формируют непрерывный градиент от клинических и хозяйственно-бытовых источников АРГ к поверхностным водоемам, где устойчивые микроорганизмы и детерминанты резистентности могут сохраняться, накапливаться и вовлекаться в круговорот веществ и обмена генетической информации (Сазыкин и др., 2020). Концентрации антибиотиков и других противомикробных препаратов в хозяйственно-бытовых и госпитальных стоках, как правило, субингибирующие для многих микроорганизмов, однако они достаточны для поддержания селективного давления, способствующего отбору устойчивых популяций и активации механизмов горизонтального переноса генов (Xu et al., 2020).

Сточные воды коммунальных и медицинских учреждений характеризуются высокой долей УПМ и патогенных микроорганизмов, включая *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis* и *E. faecium*, среди которых широко распространены множественно устойчивые штаммы, несущие гены β -лактамаз расширенного спектра, карбапенемаз, устойчивости к

фторхинолонам, аминогликозидам, макролидам и сульфаниламидам (Matlou et al., 2019). Метагеномные и ПЦР-исследования показывают, что в неочищенных сточных водах и осадках очистных сооружений высокой относительной распространенностью обладают гены устойчивости к сульфаниламидам (*sul1*, *sul2*), тетрациклинам (*tetM*, *tetW*, *tetB*), макролидам (*ermB*, *mphA*), а также гены, кодирующие β -лактамазы классов *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} и карбапенемазы (*bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48}), и интегроны первого класса (*intI1*) (Moghaddam et al., 2014; Moosavian и др., 2018; Mirzaie et al., 2023; Namatovu et al., 2025). Высокая представленность генов *intI1* и связанных с ними кассет устойчивости подчеркивает роль мобильных генетических элементов (МГЭ) (плазмид, транспозонов, интегронов) в поддержании и распространении резиста в водной среде (Liu et al., 2024).

Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* следует выделить *E. coli* - индикатор фекального загрязнения водных объектов. Кишечные палочки служат основным маркером фекальной контаминации, обнаружение их в поверхностных водоемах указывает на степень антропогенной нагрузки на водоем. Штаммы *E. coli* и других представителей семейства *Enterobacteriaceae*, выделенные из сточных и поверхностных вод, все чаще являются хозяевами бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}) и карбапенемаз (*bla*_{KPC}) (Namatovu et al., 2025; Moghaddam et al., 2014).

Очистные сооружения коммунального типа, включая аэротенки с АИ, рассматриваются как потенциальные «горячие точки» как отбора, так и горизонтального переноса АРГ (Rumky et al., 2022; Shamsizadeh et al., 2024). В условиях высокой плотности микробных популяций, постоянного притока антибиотиков создаются благоприятные условия для реализации конъюгации, трансдукции и трансформации между фекально-ассоциированными и аутохтонными бактериями в составе АИ. Показано, что биоценозы активного ила и биопленок на инженерных поверхностях канализационной инфраструктуры могут содержать широкий спектр АРГ и МГЭ (Wang et al.,

2024; Sun et al., 2025). При этом даже эффективно-функционирующие очистные сооружения не обеспечивают полного удаления АРБ и АРГ: значительная часть генетических детерминант и носителей устойчивости обнаруживается в очищенных СТВ и аккумулируются в донных отложениях поверхностных водоемах ниже выпуска (Mahaney, Franklin, 2022).

Особое значение имеют данные, полученные для крупных городских агломераций, определяющихся, очевидно, более высокой плотностью популяции в отличие от сельской местности. Исследования сточных вод Москвы, выполненные ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, показали, что в метагеномной ДНК микробных сообществ городских сточных вод присутствуют сотни генов устойчивости к основным классам антибиотиков, включая бета-лактамы, тетрациклины, сульфаниламиды, аминогликозиды, макролиды и дезинфектанты (четвертичные аммониевые соединения). Кроме того, те же гены выявлялись у бактерий в очищенных СТВ, сбрасываемой в реку Москву. По оценкам Begmatov et al., 2024, доля АРГ в очищенных сточных водах снижается по сравнению с сырыми стоками в 3–4 раза, причем, АРГ к макролидам и тетрациклинам удалялись эффективнее, чем гены бета-лактамаз. Эти результаты подтверждают роль КОС в России как звеньев циркуляции АРГ между антропогенными и природными экосистемами.

1.2 Мониторинг АРГ в водных экосистемах

1.2.1 Источники и пути поступления АРГ в водные экосистемы

По мере увеличения нерационального применения антибиотиков в медицине, аквакультуре, сельском хозяйстве, происходит накопление АРБ и АРГ в микробиоте, в частности, кишечника человека и животных (Wang et al., 2020; Khmelevtsova et al., 2020; Mulchandani et al., 2023).

Сточные воды лечебно-профилактических учреждений представляют собой один из источников поступления антибиотиков и АРБ/АРГ в окружающую среду. Это обусловлено высоким уровнем потребления антимикробных препаратов в стационарах, применением дезинфектантов, а

также выделением неметаболизированных антибиотиков с мочой и фекалиями пациентов в канализацию (Zhang et al., 2020; Fatimazahra et al., 2023).

Растет тенденция добавления антибиотиков в корм и непосредственно в воду для стимуляции роста, а также лечения и профилактики различных бактериальных заболеваний сельскохозяйственных животных и объектов аквакультуры (Santos et al., 2016; Song et al., 2016). Используются антибактериальные препараты, относящиеся к следующим группам: аминогликозиды, бета-лактамы, макролиды, нитрофураны, сульфаниламиды, тетрациклины, хинолоны, хлорамфениколы, из которых большая часть является бактериостатическими препаратами широкого спектра действия, активными в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (Zhang, 2004). Лишь небольшая часть этих АБП адсорбируется в организме, в то время как подавляющее большинство выделяется в окружающую среду, оказывая влияние на экосистемы и вызывая резистентность к антибиотикам (Andrieu et al., 2015; Reverter et al., 2016; Santos et al., 2016; Yuan et al., 2019).

Только в аквакультуре около 80 % используемых АБП содержится в несъеденных кормах. Непоглощенные антибиотики попадают в водную среду и донные отложения, создавая при этом благоприятные условия для возникновения и распространения АРГ в микробиомах водных экосистем (Seiler et al., 2012; Henriksson et al., 2018; Brunton et al., 2019). Более того, сравнительное исследование непромысловых районов в 2014 году показало, что применяемые антибиотики на промысловых участках обнаруживались даже в удаленных от него акваториях (Shah et al., 2014). В объектах аквакультуры были идентифицированы детерминанты резистентности, кодирующие устойчивость к аминогликозидам (*aph*, *aad* и *aac* (6') - *Ib*), бета-лактамам (*bla*_{CTX-M} и *bla*_{TEM}), макролидам (*mphA* и *erm*), сульфонидами (*sul1*, *sul2* и *sul3*), тетрациклину (*tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE* и *tetG*), фторхинолонам (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS1* и *aac* (6') - *Ib-cr*), хлорамфениколу (*catA2*, *cml* и *floR*) и т.д. (Liu et al., 2017; Miranda et al., 2018).

МГЭ и АРГ устойчивости к хинолонам, тетрациклинам и бета-лактамам антибиотикам являются общими для бактерий, которые могут являться как патогенами животных, так и человека (Cabello et al., 2013). Обнаружено, что бактерии, выделенные из донных отложений, содержат те же АРГ, которые выявляются и у патогенов человека (Yang et al., 2013). Также было продемонстрировано наличие одинаковых АРГ устойчивости к фторхинолонам у *E. coli*, выделенной в районах интенсивной аквакультуры, и клиническими штаммами. Эти результаты предполагают связь бактерий в системах аквакультуры с микробиомом человека за счет однонаправленного или двунаправленного потока АРГ и МГЭ (Tomova et al., 2015).

Согласно последним исследованиям глобальное потребление антимикробных препаратов в животноводстве в 2020 году составило 99,5 тыс. тонн и к 2030 году прогнозируется увеличение на 8 % до 107,5 тыс. тонн, а к 2040 году – до 143 тыс. тонн (Mulchandani et al., 2023; Acosta et al., 2025). Применение субтерапевтических доз антибиотиков при профилактике возникновения инфекций у животных, а также в качестве стимуляторов роста, приводит к накоплению АРБ и АРГ в микрофлоре животных и в объектах их содержания. В частности, свиноводство и птицеводство является одной из «горячих точек» возникновения АРГ (Lekagul et al., 2019).

Навоз животных является резервуаром генов устойчивости к антибиотикам АРГ, которые представляют потенциальный риск для здоровья как сельскохозяйственных животных, так и человека (Wang et al., 2016-a). Фекалии, вместе с неметаболизированными антибиотиками, АРБ и АРГ попадают в ямы для хранения свиного навоза, где бактерии подвергаются селективному давлению и создают риск для возникновения и распространения АРГ, в том числе и посредством горизонтального переноса генов (Neher et al., 2023; Michaelis et al., 2023). Последующее использование навоза в качестве удобрений влияет на распространение АРБ и АРГ в почву, сточные воды, а затем и в поверхностные водоемы и грунтовые воды (Wang et al., 2016-b).

Комплексное метагеномное исследование 294 образцов, включая фекалии, пробы окружающей среды фермы и бойни, почву, сточные воды, показало наличие АРГ к 19 классам антибиотиков. Более того, 14 типов АРГ, принадлежащих основному резистому, относятся к классам антимикробных препаратов, определенным как «критически важные для здоровья человека», среди них АРГ устойчивости к гликопептидам (*vanI*, *vanRG* и *vanRB*), антимикробным пептидам (*pmrF* и *ugd*), фосфомицину (*Ctra_murA_FOF*), бета-лактамам (*Hinf_PBP3_BLA*) и *TolC*, *msbA*, *poxtA*, *Ecol_gyrA_FLO*, *efrA*, *evgA* и *adeF* (Scicchitano et al., 2024).

Нерациональное применение антибиотиков в птицеводстве также вносит вклад в распространение АРГ и АРБ на птицефермах. Окружающая среда птичников является основным резервуаром, обеспечивающим персистенцию АРГ и их передачу между последовательными циклами производства. В своем исследовании Leclercq et al. (2024) убедительно доказали, что основным фактором сохранения *E. coli* с множественной лекарственной устойчивостью на протяжении трех поколений птицы является рециркуляция штаммов из окружающей среды помещений. Почва прилегающей территории, вода из децентрализованных источников водоснабжения и поверхности производственных объектов также участвуют в формировании замкнутого цикла циркуляции устойчивых микроорганизмов (Leclercq et al., 2024).

Питьевая вода и система водоснабжения представляют собой специфический резервуар резистентности. Piccirillo et al. (2024) установили, что микробиом воды и биопленки в трубопроводах существенно отличался от фекального, но являлся резервуаром условно-патогенных бактерий сем. *Comamonadaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Staphylococcaceae* и генов устойчивости, включая *ermB*, *bla_{NDM}* и *mcr-5*. Биопленка служила стабильной средой для накопления АРГ даже без прямого антимикробного давления, а трубопроводы выступали связующим звеном между животными и окружающей средой. Важным наблюдением является локализация генов

*bla*_{NDM} в питьевой воде и биопленках систем водоснабжения органических ферм при их отсутствии в фекалиях, что определяет системы водоснабжения как специфический резервуар и потенциальный вектор распространения резистентности к карбапенемам (Piccirillo et al., 2024). Сточные воды представляют собой нишу, аккумулирующую резистом из множественных источников на птицеферме. Williams et al. (2023) установили, что сточные воды обладают наибольшим разнообразием АРГ, включая гены клинически значимых карбапенемаз. Однако исследователями было показано, что лишь 22% резистома городских сточных вод объясняется вкладом от птиц, что свидетельствует о наличии других значимых источников, в том числе других сельскохозяйственных животных (Williams et al., 2023).

Неэффективность традиционных санитарных мероприятий, способность резистентных штаммов персистировать в биопленках, активный горизонтальный перенос генов с помощью МГЭ и ко-селекция под действием тяжелых металлов и биоцидов создают условия для долгосрочной циркуляции резистома даже без прямого давления антибиотиков. Дальнейшему распространению способствует массовый вынос АРГ и АРБ в окружающую среду. В результате резистом выходит за пределы больниц, ферм, сточных вод и интегрируется в глобальную циркуляцию, создавая угрозу здоровью человека и экологической безопасности.

1.2.2 Механизмы передачи АРГ между бактериями

Стоит отметить, что, несмотря на проблему роста числа инфекций, вызванных АРБ, приобрела мировой резонанс в XX в. с появлением первых терапевтических антибиотиков, бактерии активно используют эти вещества порядка 2 миллиардов лет. Возникновение АРГ у бактерий происходит двумя путями: во-первых, путем возникновения мутаций («внутренний резистом»); во-вторых, при помощи горизонтального переноса генов («внешний резистом»). Центральную роль в распространении АРГ ученые отдают ГПГ, т.к. он позволяет распространять детерминанты устойчивости за пределы конкретных клонов (Jang et al., 2018; Jo et al., 2021).

Основными механизмами, обеспечивающими резистентность к АБП, является выведение антибиотиков из клетки, модификация мишени антибиотика и его деградация. Данные механизмы могут возникать в результате мутаций хромосомных генов и приобретения АРГ от других штаммов бактерий в процессе горизонтального переноса генов. Обмен генами путем ГПГ вносит важный вклад в глобальное распространение АРГ. ГПГ может происходить в любой среде, особенно при высокой бактериальной нагрузке - например, условия водной среды, создающие уникальные условия для осуществления ГПГ (Sakulworakan et al., 2021).

Существует три механизма горизонтального переноса генов: конъюгация, трансдукция и трансформация. Бактериальная конъюгация является наиболее распространенным механизмом и вносящим наибольший вклад в пул маркеров ГПГ. При конъюгации ген, который находится в составе мобильного генетического элемента, переносится в клетку-реципиент путем прямого физического контакта. Что интересно, конъюгация может происходить не только внутри одного вида, но и между таксонами, но с меньшей частотой (Muziasari et al., 2014).

В отличие от внутриклеточной ДНК, внеклеточные АРГ могут проникать в компетентные клетки бактерий посредством естественной трансформации. Естественная трансформация - это процесс, при котором клетки активно поглощают внеклеточную ДНК и интегрируют ее в свой геном с дальнейшим наследованием (Muziasari et al., 2016). Многие бактерии и археи обладают естественной компетентностью, т.е. способностью захватывать экзогенную ДНК из окружающей среды. В числе таких организмов в том числе и клинически значимые роды *Helicobacter*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Vibrio* (Johnsborg et al., 2007). Компетентность - явление временное: она индуцируется в ответ на конкретные внешние сигналы (доступность питательных веществ, плотность популяции), реализуется при участии 20–50 специализированных белков. Условия формирования и молекулярные регуляторы компетентности существенно различаются у

разных видов и штаммов (Cohan et al., 1991; Slager et al., 2014). Источником трансформирующей ДНК служат фрагменты, высвобождающиеся при гибели клеток или разрушении вирусных частиц. Внеклеточная ДНК широко распространена в окружающей среде - она присутствует в почве, пресной и морской воде, пищевых продуктах, кормах и донных отложениях (Lorenz et al., 1994). Кроме того, естественная трансформация полностью управляется клеткой-реципиентом. За счет этой способности трансформация - единственный потенциальный механизм для бактерий приобретать ДНК от других видов за пределами спектра хозяев МГЭ или бактериофагов (Muziasari et al., 2016).

Трансдукция представляет собой опосредованный бактериофагами перенос ДНК хозяина между бактериальными клетками (Schmieger, Schicklmaier, 1999; Helsen et al., 2020). В данном механизме ГПГ задействованы не только бактериофаги, но и вирусы архей. Существует три механизма трансдукции: лизогенная конверсия, специализированная и генерализованная трансдукция. При лизогенной конверсии умеренные фаги могут временно интегрировать геном хозяина, и их репликация вызывает фенотипические изменения, которые не участвуют в жизненном цикле фага. В процессе специализированной трансдукции образующиеся профаги могут ошибочно вырезать и переносить соседний участок хромосомы хозяина (Colomer-Lluch et al., 2011). Наконец, ДНК хозяина может быть ошибочно упакована в капсид и передаваться путем генерализованной трансдукции другим бактериям. Бактериофаги могут переносить как плазмидную, так и хромосомную ДНК (Ito et al., 2003). Некоторые бактериофаги способны перемещаться между разными видами бактерий, так как имеют широкий спектр бактерий-хозяев (Lulijwa et al., 2019).

Горизонтальный перенос генов имеет место при распространении детерминант резистентности к антибиотикам от комменсальных микроорганизмов к патогенным, как это было показано на клинически значимых АРГ. Вода является идеальной средой для протекания процессов

ГПП, т.к. в этой среде могут находиться одновременно как аутохтонные, санитарно-показательные микроорганизмы, условно-патогенные и патогенные для человека микроорганизмы (Jo et al., 2021). Помимо этого, частота и скорость протекания процессов переноса генов тем выше, чем бактерии филогенетически ближе друг к другу (Thomas et al., 2005). Стоит отметить, что в случае с ГПП, протекающим в окружающей среде, а именно в воде, было показано, что количество внеклеточной ДНК превышает количество внутриклеточной. Это означает, что в определенных условиях внеклеточная ДНК является резервуаром генов, которые могут быть использованы бактериями в процессе трансформации (Savin et al., 2023). Показано, что МГЭ, такие как транспозоны, интегроны и кассеты генов, могут эффективно распространяться между видами, независимо от уровня их генетического родства (von Wintersdorff et al., 2016). Кроме того, виды стрептококков обмениваются конъюгативными транспозонами посредством трансформации в дополнение к конъюгации (Abe et al., 2020). Все это указывает на то, что трансформация предоставляет широкие возможности для горизонтальной передачи детерминант устойчивости между видами.

1.2.3 Факторы, влияющие на горизонтальный перенос генов

Помимо явных причин распространения АРГ в водной среде, таких как нерациональное применение АБП в медицине, сельском хозяйстве и аквакультуре, сбросе недостаточно очищенных сточных вод, интенсивная антропогенная нагрузка на водоем, есть ряд факторов, изучение которых началось относительно недавно.

Проблема загрязнения объектов окружающей среды пластиком уже давно вышла за пределы только лишь пагубного влияния на животных, обитающих в водной среде. Поскольку пластик имеет гораздо более длительный период полураспада, чем большинство естественных плавучих субстратов, и имеет гидрофобную поверхность, которая способствует колонизации микроорганизмов и формированию биопленок, он служит пелагической средой обитания для бактерий и беспозвоночных животных.

Zettler et al. назвал микробное сообщество частиц пластика, состоящее из гетеротрофов, автотрофов, хищников и симбионтов, «пластисферой» (Zettler et al., 2013).

Предполагается, что поверхность микропластика (МП), колонизированная разнообразными и метаболически сложными микробными консорциумами, является «горячей точкой» для горизонтального переноса генов. Исследования показали, что сообщества биопленок на пластиковых субстратах отличаются от сообществ в толще воды и донных отложений. Частицы МП не только служат новым субстратом для колонизации биопленок, но также увеличивают вероятность распространения патогенов, в том числе с множественной лекарственной устойчивостью. Относительно колонизации частиц микропластика микроорганизмами ряд вопросов еще предстоит решить в ходе будущих исследований, в том числе: сохранится ли архитектура биопленки целостной вследствие миграции частиц МП, влияют ли факторы окружающей среды на структуру биопленки, сохраняют ли патогены свои вирулентные свойства и оказывают ли влияние на местные микробные сообщества, какой вклад вносит в распространение АРГ (Wu et al., 2019).

Тем не менее, уже существуют исследования, в ходе которых было установлено влияние частиц МП на распространение АРГ в водных экосистемах. При исследовании проб пресной воды из установок закрытого водоснабжения (УЗВ) было показано, что абсолютное содержание 10 АРГ в частицах МП выше, чем в воде, на три порядка. В пробах были обнаружены следующие АРГ: *tetG*, *qnrS*, *sul1*, *sul2* и *ermF*. Абсолютное количество генов устойчивости к тетрациклину на частицах МП было выше в 2200-6600 раз, чем в воде (Dong et al., 2021).

Частицы МП, а также остатки антибиотиков обнаруживаются как в воде и донных отложениях, так и в тканях гидробионтов (Huang et al., 2012). Кроме того, на частицах МП способны адсорбироваться не только микроорганизмы, но и поллютанты различного происхождения (тяжелые металлы, пестициды,

генотоксиканты), которые, в свою очередь, влияют на отбор в микробной популяции биопленки МП.

Наночастицы (НЧ), как и гены антибиотикорезистентности, недавно признали новыми загрязнителями, способными накапливаться в окружающей среде. Их влияние на распространение АРГ остается мало изученным (Zhang et al., 2020).

В последние годы появляются данные, свидетельствующие о том, что тяжелые металлы могут влиять на устойчивость к АБП посредством прямой мутации или косвенного совместного отбора. Например, сообщалось, что Cu (II), Cd (II), Zn (II) и Hg (II) индуцируют устойчивость к АБП посредством коселекции (Lu et al., 2020).

Показано, что Cu (II), Ag (I), Cr (VI) и Zn (II) усиливали внутривидовой конъюгативный процесс переноса АРГ между штаммами кишечной палочки (Zhang et al., 2018; Zhang et al., 2019). Кроме того, в исследованиях Qiu et al., 2012 сообщалось, что НЧ Al_2O_3 и TiO способствовали конъюгативному переносу АРГ за счет увеличения проницаемости мембраны бактериальной клетки и влияния на экспрессию генов, связанных с конъюгацией (Qiu et al., 2012). Также способность увеличивать конъюгативный перенос плазмиды RP4 обнаружена у НЧ меди в концентрации 5,0 мкг/л. Механизм повышенного конъюгативного переноса заключался в способности Cu вызывать повреждения клеток (Wang et al., 2020).

В эксперименте с переносом плазмиды RP4 от штамма *E. coli* DH5 α к аллохтонным водным бактериям показано, что сублетальная концентрация наночастиц ZnO может облегчить горизонтальную передачу плазмиды. Также перенос плазмиды резистентности pGEX4T-1 путем трансформации усиливался в присутствии НЧ ZnO. Облегченный горизонтальный перенос генов увеличивает риск распространения АРГ в водной среде, что подчеркивает необходимость уменьшения случайных выбросов наночастиц оксида цинка (Wang et al., 2018).

Наночастицы природного сфалерита способны увеличивать горизонтальный перенос АРГ между грамотрицательными бактериями. Причем, увеличение ГПП в водной среде наблюдалось при определенных концентрациях природного сфалерита и при достаточной плотности бактерий и времени конъюгации. Механизм, связанный с увеличением горизонтального переноса АРГ в таких условиях, объясняют повреждением мембран клеток в результате окислительного стресса, т. к. усиливалась экспрессия генов, связанных со стрессом. Результаты этого исследования показали, что взаимодействие минералов и АРБ в объектах окружающей среды должны тщательно исследоваться, чтобы минимизировать риски для здоровья населения и экологической обстановки (Li et al., 2020).

Модельное исследование Chowdhury et al. (2021) подтвердило значительную и необратимую сорбцию внеклеточных АРГ на НЧ каолининовой глины, кремнезема, функционализированных гуминовой кислотой НЧ диоксида кремния. Необратимая сорбция фракций внеклеточных АРГ может указывать на возможность НЧ быть стабильными резервуарами внеклеточных АРГ в окружающей среде (Chowdhury et al., 2021).

На сегодняшний день отечественных исследований в области влияния НЧ на перенос АРГ, как и исследований АРГ в целом, очень мало (Ажогина и др., 2020). Тем не менее, в одной экспериментальной работе изучалось влияние наночастиц оксидов металлов ($\text{AlO}(\text{OH})$, CuO , Fe_3O_4 , TiO_2 и ZnO) на трансформацию *E. coli* K12 и конъюгацию между *E. coli* cc118 и *E. coli* Nova Blue. Аналогично результатам, полученным в работе Otinov et al., 2020 наночастицы ZnO , увеличили эффективность трансформации более чем в 9 раз, в то время как НЧ TiO_2 снизили ее до 31 раза. В то же время, НЧ $\text{AlO}(\text{OH})$ увеличивали число трансконъюгатов более чем в 1,5 раза, а наночастицы CuO и Fe_3O_4 не оказали существенного влияния на оба механизма ГПП (Otinov et al., 2020). Таким образом, данные показывают, что разные типы наночастиц могут, как усиливать скорость процессов горизонтального переноса

детерминант устойчивости, так и ингибировать ее, влияя на распространения АРГ в окружающей среде.

1.3 Экотоксикологический мониторинг водных экосистем

В связи с масштабным загрязнением гидросферы возрастает интерес к мониторингу токсичности водных экосистем. Контроль качества воды при водопользовании сосредоточен в области химического определения токсикантов и микробиологических параметров водоисточников. Применение только химического анализа для оценки токсичности воды не учитывает интегрального токсического эффекта на биологические объекты, в частности, гидробионты. Химический анализ эффективен для количественного определения содержания токсикантов, в то время как методы биотестирования позволяют оценить общий токсический эффект на организм.

Для оценки экотоксикологических параметров при мониторинге водных экосистем используются методы биотестирования с применением цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров. Данные тест-системы используются как инструменты для быстрого скрининга токсичности питьевых, поверхностных, грунтовых и сточных вод, донных отложений (МР 01.021-07). Существуют зарегистрированные и внедренные в практику определения интегральной химической токсичности тест-системы на основе лиофилизированных люминесцентных бактерий или ферментные препараты бактериальной люциферазы (Лаврский, Пронина, 2023). В настоящее время для тестирования токсичности широко используются биологические тесты с применением природных биолюминесцентных бактерий, таких как *Vibrio fischeri*, *Vibrio harvey*, *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas leiognathi* (Girotti et al., 2008). В качестве цельноклеточных lux-биосенсоров используются либо типичные морские светящиеся бактерии, либо организмы, выделенные из тестируемой среды и генетически модифицированные в люминесцентные штаммы (Dunn et al., 2015).

Одним из наиболее ранних стандартизированных биолюминесцентных бактериальных тестов является «Microtox» (Modern Water, США). В качестве

тест-культуры используется штамм *Aliivibrio fischeri* (прежнее название – *Vibrio fischeri*). Люминесценция этих бактерий – это часть нормального клеточного метаболизма через реакцию фермента люциферазы. При воздействии токсиканта клеточное дыхание нарушается, что приводит к угасанию биолюминесценции (Brouwer et al., 1990; Pérez et al., 2012). Люминесценция и ее регуляция у *V. fischeri* обусловлены транскрипцией генов *lux*-оперона. Оперон состоит из двух отдельных компонентов, которые транскрибируются независимо друг от друга: *luxICDABEG*-оперона и гена *luxR* (Lupp et al., 2003). Субъединицы α и β люциферазы кодируются генами *luxA* и *luxB* соответственно. Комплекс кислой редуктазы кодируется генами *luxC*, *luxD* и *luxE*, а *luxG* контролирует метаболизм флавинадениндинуклеотида (Nijvipakul et al., 2008). Люминесценция *V. fischeri* регулируется межклеточным сигнальным механизмом, основанным на плотности популяции бактерий – *Quorum sensing*. В регуляции чувства кворума участвуют два гена: *luxI* и *luxR*, которые кодируют синтазу аутоиндуктора (LuxI) и аутоиндуктор-зависимый активатор *lux*-оперона (LuxR) соответственно (Nunes-Halldorson, Duran, 2003).

В России среди стандартизированных цельноклеточных *lux*-биосенсоров для определения интегральной токсичности применяются биотесты «Эколюм». В качестве тест-штаммов используются как морские светящиеся бактерии, так и рекомбинантные штаммы *E. coli* (Лаврский, Пронина, 2023). Рекомбинантный штамм тест-системы «Эколюм-8» содержит *E. coli* K12 с встроенным *lux*-опероном *Photorhabdus luminescens*. Данный биотест применяется для тестирования не только объектов водной среды (МР 01.021-07), но также для оценки токсичности почвы и воздушной среды (МР 01.019-07; МР 01.020-07). Преимуществом рекомбинантных биосенсоров является отсутствие необходимости в осмотической коррекции исследуемых образцов, что позволяет использовать их для анализа пресной воды и водных растворов химических соединений.

Для повышения специфичности *lux*-биосенсоров на основе генно-модифицированного штамма *E. coli* MG1655 были разработаны сенсоры, несущие плазмиду с опероном *luxCDABE*, находящимся под контролем индуцируемых промоторов (Zavilgelsky et al., 2012). То есть, помимо определения интегральной токсичности, стало возможным обнаруживать целые группы веществ в исследуемой пробе. Например, для обнаружения агентов, способных вызывать окислительный стресс в клетке, были разработаны биосенсоры с многокопийной рекомбинантной плазмидой, в которой *lux*-оперон *P. luminescens* находится под контролем промотора генов каталазы (PkatG) и супероксиддисмутазы (PsoxS) (Kotova et al., 2010). Кроме того, были предложены *lux*-биосенсоры для обнаружения белков теплового шока, с промоторами PgrpE и PibpA, экспрессия которых индуцируется веществами, повреждающими белки (этанол, фенол, азид натрия и др.) (Danilov et al., 2002; Kotova et al., 2010; Zavilgelsky et al., 2012).

Для изучения генотоксичности объектов окружающей среды используются бактериальные люминесцентные биосенсоры, которые содержат плазмиды с люминесцентным опероном под контролем промоторов генов *recA* (PrecA) и *cda/cold* (PcolD) генов (Kotova et al., 2010; Zavilgelsky et al., 2012). В этом случае генотоксичность определяется активацией системы SOS-ответа в клетке *E. coli*, представляя собой экспрессию стартового и терминального генов SOS-регулона в ответ на повреждение ДНК генотоксикантами (Ushakov, 2010).

Ключевое преимущество рекомбинантных *lux*-биосенсоров перед тестами на общую токсичность состоит в возможности судить о механизме токсического воздействия. Оценка экотоксичности модифицированных штаммов *E. coli* MG1655 подходит как дополнение к существующим стандартизированным методам определения интегральной токсичности. Для мониторинга водных экосистем применение батареи цельноклеточных *lux*-биосенсоров дает более содержательную картину присутствия отдельных

групп токсикантов (повреждение белков, индукция окислительного стресса, ДНК-повреждение, тяжелые металлы, антибиотики и т.д.) (Сазыкина, 2014).

Систематический мониторинг генотоксичности донных отложений р. Дон в 2001–2011 гг., охватывающий акваторию от Азовского моря до приустьевых участков крупных притоков, что стабильное загрязнение генотоксическими веществами было характерно для всех обследованных участков Нижнего Дона на протяжении всего периода наблюдений. Наибольшие и наиболее воспроизводимые генотоксические эффекты фиксировались в точках: 0 км (устьевой створ), 500 м ниже г. Азова и в устье р. Маныч. Кроме генотоксического эффекта прооксидантная активность (пероксиды) была зарегистрирована в 87,5% экстрактах донных отложений, тогда как индукция супероксид-аниона в 18,75%. Токсичность, связанная с веществами, повреждающими белки, встречалась в 100% исследуемых проб. Три экологически наиболее неблагоприятными участками Нижнего Дона признаны: устье рукава Большая Кутерьма и Мокрая Каланча, район станицы Багаевской (Сазыкина и др, 2016). Экоотоксикологическая оценка донных отложений в нижнем течении р. Дон при определении пространственного распределения полициклических ароматических углеводородов показала токсичность и генотоксичность всех проб. Кроме того, выявлена значительная корреляция между концентрацией отдельных полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях и генотоксическим эффектом (Sazykin et al., 2015).

Комплексное исследование родников г. Ростова-на-Дону показало, что загрязнение воды родников токсичными веществами носило масштабный характер, токсичность была связана с соединениями, способными повреждать ДНК и вызывать прооксидантные эффекты (Сазыкина, 2014).

В целом используемые люминесцентные биосенсоры на основе рекомбинантных штаммов *E. coli* можно использовать для тестирования широкого спектра объектов окружающей среды. Биолюминесцентные методы

могут оперативно дать предварительную оценку токсичности водных экосистем при антропогенном загрязнении.

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом данного исследования являлись микробные сообщества проб воды поверхностных водоемов, сточных вод и активного ила очистных сооружений.

Исследование проводили в 2021-2023 г. За этот период было проанализировано 58 проб воды рек Дон и Темерник (27 – в акватории г. Азова, 31 – в акватории г. Ростова-на-Дону). Пробы реки Дон отбирались в семи точках: водозабор г. Азова (9), место сброса сточных вод г. Азова (9), городской пляж г. Азова (9), участок 500 м ниже выпуска ростовской городской канализации (2), ростовский городской пляж (7), районы водозабора (7) и речного вокзала (7) г. Ростова-на-Дону; участок р. Дон в районе устья р. Темерник (7); пробы реки Темерник отбирались в устье (1). (рисунок 1). Пробы сточных вод (25) отбирали на нескольких этапах очистки: на входе в очистные сооружения (городская канализация), активный ил, очищенные сточные воды, а также пробы из поверхностных водоемов мест сброса стоков очистных сооружений (реки Средний Егорлык, Малый Несветай и балка Жанкина). Исследовались пробы очистных сооружений канализации городов Аксая, Зверево, Новошахтинска, Сальска, Таганрога и Цимлянска. Выбор точек отбора проб осуществлялся согласно действующим в РФ нормативным документам: МУ 1.2.2743-10, СанПиН 2.1.5.980-00, СанПиН 1.2.3685-21. Даты и точки отбора проб представлены в приложении 1.

Отбор и транспортировка проб воды осуществлялся согласно требованиям ГОСТ 31942-2012. Пробы объемом 500 мл отбирали асептически в стерильные полипропиленовые контейнеры и доставляли в лабораторию в течение 2-4 часов при температуре 4–8 °С в переносном холодильнике.

Выделение бактериальных штаммов проводили сразу после доставки проб в лабораторию. Для изучения распространения АРГ в микробной популяции исследовали штаммы бактерий-индикаторов фекальной контаминации родов *Citrobacter*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*,

Klebsiella, *Pseudomonas* и *Salmonella* как с резистентным, так и с чувствительным фенотипом.

Для последующих молекулярно-генетических и экотоксикологических анализов пробы разливали по стерильным центрифужным пробиркам объемом 50 мл и хранили при температуре -20°C до проведения исследований.

Перед выделением ДНК пробы концентрировали центрифугированием с последующим отбором осадка биомассы. Пробы сточных и поверхностных вод центрифугировали в объеме 50 мл при 8000 об/мин в течение 7 мин при температуре 4°C на центрифуге Allegra X-30R (Beckman Coulter, США).

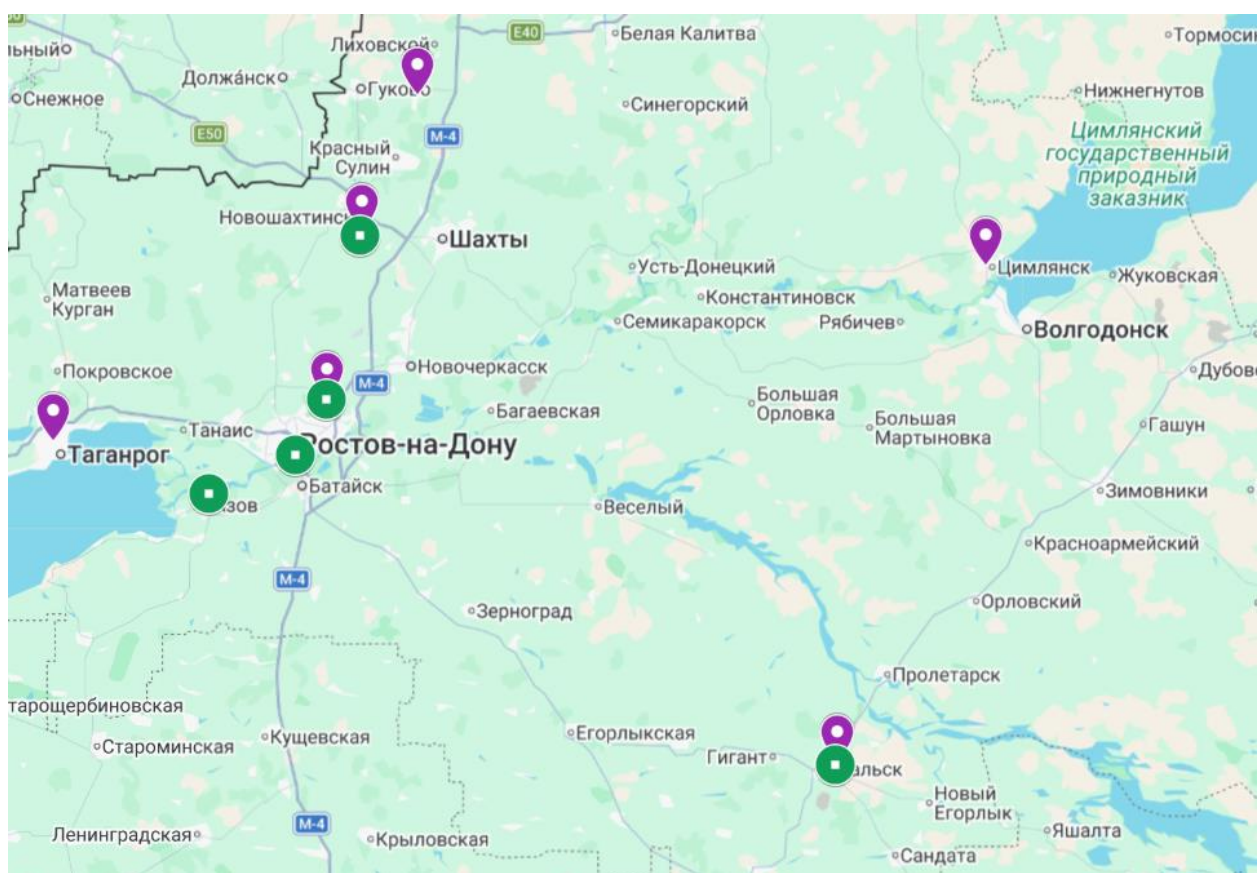


Рисунок 1 – Карта-схема мест отбора проб сточных вод очистных сооружений канализации на разных этапах очистки (фиолетовый) и поверхностных водоемов (зеленый).

ГЛАВА 3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Таксономическое профилирование микробиомов проб сточных вод с помощью секвенирования гена 16S рРНК

3.1.1 Экстракция и оценка качества метагеномной ДНК

Метагеномную ДНК из проб сточных вод с целью 16S-метапрофилирования выделяли с использованием коммерческого набора SKYamp Stool DNA Kit (SkyGen, Москва, Россия) согласно протоколу производителя. В качестве образцов использовали предварительно подготовленные осадки проб (Глава 2).

Концентрацию выделенной ДНК определяли флуориметрически с использованием набора Equalbit dsDNA HS Assay Kit (Vazyme Biotech Co, Китай) на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США).

Далее осуществляли анализ фрагментации метагеномной ДНК с помощью электрофореза в агарозном геле. Электрофорез фракций ДНК проводили в 1,2% агарозном геле в TBE-буфере (Евроген, Россия) в течение 40 минут при напряженности 10 В/см. Затем гель окрашивали в растворе бромистого этидия (1 мкг/мл EtBr, 1 mM ЭДТА) в течение 20 минут. Наблюдение флуоресценции и фотографирование проводили при освещении геля ультрафиолетовым светом на гель-документирующей системе высокого разрешения SG-Advance523 (Shenhua Science Technology Co., Ltd (SHST), Китай). Использовали маркер длин DNA Ladder 1 kb (Евроген, Россия).

3.1.2 Амплификация гена 16S рРНК

Выделенные образцы ДНК (5 нг) использовали для амплификации гена 16S рРНК (около 1500 п.н.) с универсальными праймерами:

Прямой: 5'GCATC/штрихкод/AGRGTTYGATYMTGGCTCAG3'

Обратный: 5'GCATC/штрихкод/RGYTACCTTGTTACGACTT3' (Протокол PN 101-599-700, Pacific Biosciences, Менло-Парк, Калифорния, США). Каждый праймер содержал специфический для PacBio штрихкод, что позволяло проводить мультиплексирование образцов. Программа ПЦР включала 30 циклов со следующими параметрами: начальная денатурация при 95 °C в

течение 30 с, отжиг при 57 °C в течение 30 с и элонгация при 72 °C в течение 60 с. Продукты амплификации оценивали с помощью анализатора фрагментов (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США), после чего равные количества ДНК из каждого образца были объединены.

3.1.3 Подготовка библиотек и секвенирование

Подготовку библиотек проводили по протоколу PacBio 16S SMRTbell с использованием набора SMRTbell Prep Kit 3.0 (Pacific Biosciences, США).

Выход библиотеки и распределение фрагментов по размерам контролировали с применением флуориметрического набора Qubit HS DNA assay (Invitrogen, США) и автоматического электрофореза на приборе Fragment Analyzer (Agilent Technologies, США).

Секвенирование выполняли на платформе PacBio Sequel IIe (Pacific Biosciences, США) с временем регистрации «movie time» - 10 ч.

3.1.4 Биоинформатическая и статистическая обработка данных секвенирования

Качество исходных файлов FASTQ оценивали с использованием программы FastQC v0.12.0. Для дальнейшего анализа отбирали последовательности длиной 1000–1600 п.н. с использованием программы SeqKit2 v2.10.0.

Биоинформатическую обработку и таксономическую классификацию выполняли в программной среде QIIME2 (сборка amplicon-2024.10) (Bolyen, 2019). Денойзинг (удаление ошибок секвенирования и выделение вариантов ампликонных последовательностей, ASV) проводили с использованием плагина DADA2 (Callahan, 2016). Таксономическую аннотацию ASV выполняли по референсной базе данных Greengenes2 (McDonald, 2024).

Альфа-разнообразие (внутривыборочное разнообразие) оценивали по следующим индексам: Шеннона (мера видового разнообразия), Симпсона (вероятность принадлежности двух случайно выбранных особей к одному виду), Чао1 (оценка видового богатства), Пиелу (мера равномерности распределения видов) (Simpson, 1949; Pielou, 1966; Chao, 1984; Shannon,

Weaver, 1998). Бета-разнообразие (межвыборочное разнообразие) оценивали с использованием метрики несходства Брея–Кертиса (Bray, Curtis, 1957).

Для выравнивания глубины секвенирования проводили прореживание на уровне 4000 прочтений на образец. Дальнейшую статистическую обработку данных проводили в программной среде R v4.4.1 (R Foundation for Statistical Computing, Вена, Австрия).

Сравнение показателей альфа-разнообразия между группами образцов выполняли с использованием непараметрических критериев Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни (Kruskal, Wallis, 1952). Различия в бета-разнообразии оценивали методом пермутационного многофакторного дисперсионного анализа (PERMANOVA) (Anderson, 2001). Дифференциальный анализ численности (Differential Abundance Analysis, DAA) проводили с использованием пакета MaAsLin2, применяя многомерную линейную модель для выявления ассоциаций между численностью бактерий и переменными (место отбора пробы, населенный пункт, дата отбора) (Mallick, 2021). В качестве референсных категорий использовали: неочищенные сточные воды (место отбора), Аксай (населенный пункт), 27 июля 2022 г. (дата отбора). Анализ проводили с нормализацией TSS (Total Sum Scaling) и логарифмическим преобразованием, со стандартизованными предикторами и фильтрацией признаков с минимальной распространенностью 10%.

Корреляционный анализ между численностью бактерий, индексами альфа-разнообразия, показателями lux-биосенсоров и уровнем экспрессии генов проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (Spearman, 2010). Для коррекции множественных сравнений применяли поправку Бенджамини–Хохберга, что позволяло контролировать среднюю долю ложных отклонений гипотез (FDR) (Benjamini, 1995). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$ и $q < 0,05$ (скорректированные р-значения).

Визуализацию результатов биоинформатического и статистического анализа выполняли с использованием пакета ggplot2 v3.5.2 (Wickham, 2016).

3.2 Выделение и идентификация бактерий

3.2.1 Выделение бактерий из проб воды и их идентификация по культуральным, тинкториальным и биохимическим свойствам

Из исследуемых проб выделяли и идентифицировали *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. Посев проб воды осуществляли в жидкую накопительную среду для энтеробактерий и неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов согласно методическим указаниям (МУК 4.2.1884-04). Для посева проб использовали метод серийных разведений - от 100 до 0,001 мл для речной воды и от 100 до 0,0000001 мл для сточных вод. Посевы инкубировали в термостате при $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Из накопительной среды, в которой отмечалось помутнение и образование газа или только помутнение, производили посев петлей на элективные плотные среды.

Для накопления сальмонелл производили посев трех объемов по 100, 10 и 1 мл для поверхностных водоемов и пяти ($1 - 10^{-4}$ мл) для проб сточных вод на магниевую среду (НПО «Питательные среды», Оболенск, Россия) в двух повторностях. Посевы инкубировали при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 46 ± 2 ч. Через 22 ± 2 ч инкубации производили предварительную оценку посевов.

Из накопительной среды производили посев на элективные плотные питательные среды: Клебсиелла-АСК, Псевдомоанс-АПС (ОНТ НИИЭМ им. Пастера, Россия), Энтерококкагар, Эндо, Висмут-сульфит агар, XLD-агар (НПО «Питательные среды», Оболенск, Россия), Цетримидный агар (Merck Millipore, Германия). Посевы инкубировали при $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 24 - 48 ч. Учет синегнойных палочек проводился на Цетримидном агаре и агаре Псевдомоанс-АПС при температуре $42 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 16 - 18 часов. Колонии подозрительные в отношении исследуемых бактерий окрашивали по Граму и изучали морфологию клеток. Последующую биохимическую характеристику выполняли с применением коммерческих тест-систем: OXItest (для неферментирующих грамотрицательных бактерий), INDOLtest (для определения индолообразования), NEFERMtest 24 (для неферментирующих бактерий), ENTEROtest 24 (для энтеробактерий) (Erba Lachema, Чехия).

3.2.2 MALDI–TOF масс-спектрометрическая идентификация бактерий

Дальнейшую идентификацию бактерий проводили при помощи массспектрометрического метода. Использовали настольный масс-спектрометр Microflex LT MALDI-TOF MS с программным обеспечением FlexControl и базой данных MALDI Biotyper («Bruker Daltonics», Германия). Для прямого нанесения использовали α -циано-4-гидроксикоричную кислоту (HCCA) и стандартный раствор (50% ацетонитрила, 47,5% воды и 2,5% трифторуксусной кислоты). Суточные одиночные колонии бактерий, выросшие на агаре Мюллера-Хинтон («ФБУН ГНЦ ПМБ», Россия), наносили тонким слоем на точку мишени, начиная от середины. Затем точки с нанесенным биоматериалом покрывали 1 мкл раствора матрицы HCCA и оставляли при комнатной температуре до полного высыхания. Результаты идентификации бактерий трактовали по критериям, указанным в инструкции к прибору: 2,300–3,000 – высокая вероятность идентификации вида; 2,000–2,299 – надежная идентификация рода, вероятная идентификация вида; 1,700–1,999 – вероятная идентификация рода; 0,000 – 1,699 – ненадежная идентификация. Все повторности были определены с высокой вероятностью идентификации вида. Визуализацию белковых профилей, полученных при идентификации, проводили с помощью программного обеспечения Flex analysis3.3 («Bruker Daltonics», Германия) (Чеботарь и др., 2018).

3.3 Количественная оценка содержания генов устойчивости к антибиотикам и интегронов методом ПЦР в реальном времени

3.3.1 Выделение метагеномной ДНК проб воды и геномной ДНК бактерий методом фенол-хлороформной экстракции

Бактериальную ДНК выделяли в соответствии с методикой (Сазыкина и др., 2019) с внесенной авторской модификацией. Ночную культуру микроорганизмов, выращенную в LB-бульоне, центрифугировали в 2-миллилитровых пробирках с завинчивающейся крышкой при 6000 g в течение 2 минут, после чего надосадочную жидкость удаляли. Для получения тотальной ДНК из водных образцов использовали осадки, подготовленные

согласно главе 2. К сформировавшемуся осадку добавляли стеклянные шарики диаметром 0,25–0,5 мм, вносили 350 мкл раствора гуанидина (гуанидин HCl 240 mM; натрий-фосфатный буфер 200 mM; pH 6,0) и 350 мкл раствора SDS с лаурилсаркозинатом натрия (Tris-HCl 500 mM; SDS 2%; лаурилсаркозинат натрия 4%), затем добавляли 400 мкл фенол-хлороформной смеси. Смесь гомогенизировали на мельнице Mixer Mills MM400 («Retsch», Германия) в течение 2 минут при частоте 30 Гц и центрифугировали 7 минут при 14000 g. Верхний (водный) слой аккуратно отбирали, к нему добавляли 400 мкл хлороформа и повторяли центрифугирование 7 минут при 14000 g. После второго отбора водной фазы к ней прибавляли 500 мкл изопропанола и выдерживали 15 минут в морозильной камере, после чего ДНК осаждали центрифугированием 7 минут при 14000 g. Надосадочную жидкость сливали, пробирки устанавливали вверх дном на фильтровальную бумагу до полного удаления остаточных капель. Образовавшийся осадок дважды промывали 70%-м этанолом (добавляя по 250 мкл спирта и центрифугируя по 2 минуты на максимальной скорости), затем удаляли спирт, подсушивали осадок на фильтровальной бумаге и ресуспендировали ДНК в 100 мкл деионизированной воды.

Концентрацию выделенной ДНК определяли флуориметрически с использованием набора Equalbit dsDNA HS Assay Kit (Vazyme Biotech Co, Китай) на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы ДНК разводили до рабочей концентрации 5 нг/мкл стерильной деионизированной водой.

3.3.2 Амплификация APГ и интегронов

Количественную ПЦР (qPCR) проводили в реакционной смеси объемом 25 мкл, содержащей: однократную реакционную смесь с интеркалирующим красителем EVA Green (Synthol, Москва, Россия); по 0,2 мкМ каждого праймера (Evrogen, Москва, Россия); 25 нг матричной ДНК. Амплификацию проводили на термоциклере QuantStudio 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

В ходе работы были исследованы 12 типов АРГ: *bla_{NDM}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM}*, *bla_{CTX-M}*, *mecA*, *vanA*, *vanB*, *tetO*, *ermB*, *mphA*, *sul2*, *aadA2* включая гены интегронов 3 классов (*intI1*, *intI2*, *intI3*) (табл. 1).

Специфичность продуктов валидирована методом анализа кривых плавления, коэффициентом детерминации (r^2) и гель-электрофорезом. Для количественной оценки целевых генов использовали калибровочные кривые, построенные по серийным десятикратным разведениям (10^2 – 10^8 копий) плазмидной ДНК, содержащей целевые последовательности. Плазмидные стандарты получали клонированием ПЦР-продуктов в коммерческий вектор pAL2-TA (Evrogen, Москва, Россия) согласно рекомендациям производителя. Концентрацию плазмидной ДНК определяли на флуориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Калибровочные кривые показали значения r^2 превышающие 0,99 для целевых генов (16S рРНК, АРГ и интегронов) с эффективностью амплификации в диапазоне от 90% до 110%.

Амплификация ДНК проводилась на термоциклере ДТ-прайм (ДНК-технология, Россия). Содержание АРГ выражали как отношение количества копий целевого гена к количеству копий гена 16S рРНК, что позволило нормализовать результаты в зависимости от концентрации микробной ДНК в образце.

Температура отжига праймеров (T_a) определялась опытным путем в градиенте температур от 50 до 60 °С, оптимальная T_a использовалась в дальнейшем для детекции АРГ и интегронов, образование специфического продукта нужной длины определялось с помощью гель-электрофореза в 1,5% агарозном геле в ТАЕ буфере (Евроген, Россия) (ОФС.1.7.2.0039.18). В качестве маркера длин использовали DNA Ladder 50+ bp (Евроген, Россия).

Таблица 1 – Последовательности праймеров и условия амплификации для детекции АРГ и интегронов методом ПЦР-РВ

Наименование гена	Последовательность, 5'-3'	Размер продукта, п.н.	Условия ПЦР	Источник литературы	
16SrRNA	f: GTGSTGCAYGGYTGTCTGTC	146	95 °C–3 мин 95 °C–15 с 60 °C–60 с 72 °C–30 с 35 циклов	Rodriguez-Mozaz et al., 2015	
	r: ACGTCRTCCMCACCTTCCTC				
intI1	f: GCCTTGATGTTACCCGAGAG	196		Quintela-Baluja et al., 2021	
	r: GATCGGTCGAATGCGTGT				
intI2	f: TGCTTTTCCCACCCTTACC	195			
	r: GACGGCTACCCTCTGTTATCTC				
intI3	f: GCCACCACTTGTTTGAGGA	138			
	r: GGATGTCTGTGCCTGCTTG				
bla _{VIM}	f: ACTGTCGGATACTCACCCTC	189	95 °C–3 мин 95 °C–10 с 57 °C–35 с 72 °C–30 с 40 циклов	Tan et al., 2018	
	r: GTTATGGAGCAGCAACGATGT				
bla _{CTX-M}	f: ACCAACGATATCGCGGTGAT	101		95 °C–3 мин 95 °C–15 с 58 °C–30 с 72 °C–30 с 40 циклов	Guo et al., 2018
	r: ACATCGCGACGGCTTTCT				
mecA	f: GTGAAGATATACCAAGTGATT	147	Zhang et al., 2005		
	r: ATGCGCTATAGATTGAAAGGAT				
vanA	f: CATGGCAAGTCAGGTGAAGA	187	Lekunberri et al., 2017		
	r: CCACCGGCCTATCATCTTT				
bla _{OXA-48}	f: AGGCACGTATGAGCAAGATG	189			Al et al., 2020
	r: TGGCTTGTTTGACAATACGC				
bla _{NDM}	f: TTGGCCCGCTCAAGGTATTT	118		Azhogina et al., 2022	
	r: TTGGCCTTGCTGTCCTTGAT				
vanB	f: AGACATTCCGGTCGAGGAAC	220	95 °C–3 мин 95 °C–40 с 56,5 °C–40 с	Akanbi et al., 2017	
	r: GCTGTCAATTAGTGCGGGAA				

			72 °C–40 с 35 циклов	
<i>tetO</i>	f: ATGGCATAACAGGCACAGACC	178	95 °C–3 мин 95 °C–30 с 58 °C–40 с 72 °C–30 с 35 циклов	Azhogina et al., 2022
	r: GGATGCTGCCCAACCTTTTG			
<i>sul2</i>	f: TCCGGTGGAGGCCGGTATCTGG	191	95 °C–3 мин 95 °C–30 с 58 °C–40 с 72 °C–30 с 35 циклов	Wang et al., 2018
	r: CGGGAATGCCATCTGCCTTGAG			
<i>ermB</i>	f: GCATTTAACGACGAAACTGGCT	123	95 °C–3 мин 95 °C–10 с 59 °C–30 с 72 °C–45 с 40 циклов	Azhogina et al., 2022
	r: TGGTGAATTAAAGTGACACGAATGT			
<i>mphA</i>	f: AGTTCGTGGTGAACGACAAG	153	95 °C–3 мин 95 °C–60 с 58 °C–60 с 72 °C–45 с 35 циклов	Szczepanowski et al., 2009
	r: AGTCGATCATCCCGCTGAC			
<i>aadA2</i>	f: TAAGACGGGCTGATACTGG	251	95 °C–3 мин 95 °C–10 с 53 °C–30 с 72 °C–30 с 40 циклов	Wang et al., 2017
	r: CATAGCGTTGCCTTGCTAG			

3.4 Оценка экотоксичности проб воды с использованием батареи цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров

3.4.1 Штаммы бактерий lux-биосенсоров и условия их культивирования

Для биотестирования изучаемых образцов воды использовали батарею цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров, позволяющую регистрировать различные типы токсического действия. Все биосенсоры *E. coli* MG1655 с индуцируемой люминесценцией содержат гибридные плазмиды на основе вектора *pBR322*, несущие кассету генов *luxCDABE* люциферазной системы бактерии *Photobacterium luminescens* под контролем соответствующих промоторов и селективный маркер устойчивости к ампициллину *Amp^r*.

Штаммы *E. coli* MG1655 (*pRecA-lux*) и *E. coli* MG1655 (*pAlkA-lux*) содержат промоторы *PrecA* и *PalkA*, индуцируемые при повреждении ДНК, поэтому применялись для выявления генотоксичности, реализуемой через индукцию SOS-ответа и действия алкилирующих агентов. Промоторы *PsoxS* и *PkatG* у штаммов *E. coli* MG1655 (*pSoxS-lux*) и *E. coli* MG1655 (*pKatG-lux*) индуцируются в присутствии соединений, вызывающих оксидативный стресс, поэтому эти биосенсоры использовали для регистрации супероксидного и пероксидного стресса соответственно. Выявление веществ, повреждающих белки, проводили с помощью штамма *E. coli* MG1655 (*pIbpA-lux*), несущий промотор генов белков теплового шока *PibpA*. Для детекции токсикантов, нарушающих целостность клеточных мембран, применяли штамм *E. coli* MG1655 (*pFabA-lux*), содержащий промотор гена *fabA*, кодирующего ключевой фермент биосинтеза ненасыщенных жирных кислот. Наличие индукторов кворум-сенсинга I типа определяли с использованием штамма *E. coli* MG1655 (*pVFR1-lux*), промотор которого активируется при действии N-ацил-L-гомосеринлактонов. Штамм *E. coli* MG1655 (*pXen7-lux*) - контрольный штамм с конститутивным промотором для коррекции артефактов, связанных с изменениями активности бактериальной люциферазы, не связанными с индукцией стрессовых промоторов.

Для оценки интегральной (общей) токсичности на основе подавления биолюминесценции в присутствии токсичных веществ проб воды использовали природный биолюминесцентный штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245.

Рекомбинантные штаммы *E. coli* MG1655 культивировали в жидкой питательной среде LB с добавлением ампициллина (конечная концентрация 100 мкг/мл) при температуре 37 °С в течение 18–20 ч при постоянном встряхивании (180 об/мин).

Штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 выращивали в среде LB без добавления антибиотиков при температуре 25 °С до ранней экспоненциальной фазы роста.

Суспензию ночной культуры разводили при помощи денситометра DEN-1 («BioSan», Латвия) до мутности 1 единица Мак-Фарланда (концентрация $3 \cdot 10^8$ клеток/мл) в среде LB с добавлением ампициллина, штамм *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) разводили в стерильном 0,9% NaCl с ампициллином. Затем разбавляли в 10 раз, и подращивали при 37 °С в течение 2 часов.

Штамм *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, выращенный в среде LB+3% NaCl разбавляли в 10 раз стерильной H₂O+3% NaCl. Разведенную культуру использовали сразу.

3.4.2 Постановка теста и определение фактора индукции и индекса токсичности

Для оценки токсичности сточных вод готовили серию десятикратных разведений, при тестировании использовали разведения 10^{-2} – 10^{-4} . Для определения экотоксичности проб речной воды использовали неразведенные пробы.

Измерение люминесценции проводилось на микропланшетном люминометре Luminoskan Ascent (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции к прибору. При использовании рекомбинантных штаммов *E. coli* MG1655 измерение проводилось в течение 120 мин с интервалом между

измерениями 10 мин. Измерение интегральной токсичности (*Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245) проводилось в течение 30 мин при 25 °С.

Пробы по 180/100 мкл сточных вод и речной воды, соответственно, переносили в лунки, одна из которых служила контролем (в нее добавляли 100 мкл дистиллированной воды), а в другие лунки вносили по 100 мкл раствора токсиканта (исследуемого вещества) в различной концентрации (табл. 2). Каждую пробу анализировали в трех независимых повторностях.

Таблица 2 – Индукторы люминесценции для соответствующих lux-биосенсоров

Биосенсор	Конечная концентрация индуктора	Среда для разведения культуры
<i>E. coli</i> MG1655 (pRecA-lux)	Диоксидин $2,5 \times 10^{-5}$ М	LB + Amp
<i>E. coli</i> MG1655 (pAlkA-lux)	Эндоксан 0,1 мкг/мл	
<i>E. coli</i> MG1655 (pSoxS-lux)	Диоксидин $2,5 \times 10^{-3}$ М	
<i>E. coli</i> MG1655 (pKatG-lux)	H ₂ O ₂ 10^{-3} М	
<i>E. coli</i> MG1655 (pIbpA-lux)	Этанол 7%	
<i>E. coli</i> MG1655 (pFabA-lux)	Прогретая культура <i>E. coli</i> MG1655 (pFabA-lux) 5 мин при 45 °С	
<i>E. coli</i> MG1655 (pVfr1-lux)	Супернатант бульонной культуры <i>Vibrio aquamarinus</i> ВКПМ В-11245	
<i>E. coli</i> MG1655 (pXen7-lux)	ZnSO ₄ 10 мкг/мл	0,9% NaCl + Amp
<i>Vibrio aquamarinus</i> ВКПМ В-11245	ZnSO ₄ 10 мкг/мл	3% NaCl

Для рекомбинантных штаммов *E. coli* рассчитывали фактор индукции (I):

$$I = \frac{L_c}{L_k}$$

где L_c - интенсивность люминесценции суспензии lux-биосенсора, содержащей исследуемую пробу; L_k - интенсивность люминесценции контрольной суспензии lux-биосенсора.

Для коррекции артефактов, связанных с изменением активности люциферазы, определяли коэффициент подавления люминесценции (K) с использованием контрольного штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) с конститутивным промотором:

$$K = \frac{l_c}{l_k}$$

где l_c - интенсивность люминесценции суспензии штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux) в присутствии исследуемой пробы; l_k - интенсивность люминесценции контрольной суспензии штамма *E. coli* MG1655 (pXen7-lux).

Скорректированное значение индукционного фактора рассчитывали по формуле:

$$I_{\text{скаорр}} = \frac{I}{K}$$

Степень токсичности оценивали по значению индукционного фактора I : $I < 2$ (слабая токсичность), $2 \leq I < 10$ (умеренная токсичность), $I \geq 10$ (сильный токсический эффект).

Для штамма *V. aquamarinus* ВКПМ В-11245 рассчитывали индекс токсичности (T):

$$T = 100 \times \frac{I_k - I_c}{I_c}$$

где I_c — интенсивность люминесценции бактерий в исследуемой пробе при фиксированном времени экспозиции (30 мин); I_k — интенсивность люминесценции бактерий в контрольной пробе.

Пробы классифицировали по степени токсичности: $T < 20$ (допустимая степень токсичности), $20 \leq T < 50$ (образец токсичен), $T \geq 50$ (высокая степень токсичности).

Статистическая значимость ($p < 0,05$) изменения интенсивности биолюминесценции в исследуемой пробе по сравнению с контролем оценивалась с помощью t-критерия.

3.5 Статистическая обработка данных

Первичная статистическая обработка проводилась в MS Excel 2015, корреляционный анализ и визуализация тепловых карт выполнялись в R.Studio 4.4.2 с применением пакетов ggplot 3.5.1 и corrplot 0.95. Для определения взаимосвязи между содержанием АРГ и интегралов применялся коэффициент корреляции Спирмена. Оценка экотоксичности относительно контроля оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента.

ГЛАВА 4 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

4.1 Метапрофилирование микробиомов очистных сооружений канализации

Сточные воды содержат огромное разнообразие микроорганизмов, включая антибиотикорезистентные бактерии (АРБ), и являются естественным резервуаром для множества АРГ (Barancheshme, Munir, 2018). Структура микробного сообщества сточных вод отражает сложность их источников: поступление из коммунальных, коммерческих, медицинских и промышленных объектов (Numberger et al, 2019). Исследования на основе высокопроизводительного секвенирования показали, что бактериальные сообщества в очищенных сточных водах распределены между пятью основными бактериальными типами: Firmicutes (59,61% от общего числа секвенированных данных), Proteobacteria (24,48%), Actinobacteria (7,66%), Chloroflexi (2,29%) и Planctomycetes (1,98%). Среди доминирующих родов в сточных водах выявлены *Exiguobacterium*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Klebsiella*, *Corynebacterium* и *Acinetobacter* (Selvarajan et al., 2021). На уровне типа Proteobacteria выявлены значительные различия между различными типами сточных вод, при этом Bacteroidetes и Proteobacteria определяются как основные хозяева АРГ благодаря способности к активному обмену детерминантами резистентности посредством (ГПП) (Zhu et al., 2025).

С помощью секвенирования участков гипервариабельных областей (V1-V9) бактериального гена 16S рРНК было произведено 16S-метапрофилирование 25 образцов воды, в частности, сточных вод на разных этапах очистки и поверхностных водоемов мест сброса.

В результате метапрофилирования были получены данные о таксономическом составе исследуемых проб: выявлено 426 видов 354 родов, 119 семейств 117 порядков 47 классов 24 типов бактерий. На уровне типа (Рисунок 2) в бактериальных сообществах всех точек отбора проб доминировал тип Pseudomonadota, который встречался в 100% проб и

составлял более половины общей относительной численности (медиана встречаемости 62,58 %). Такая таксономическая картина согласуется с многочисленными исследованиями коммунальных сточных вод и активного ила, где *Proteobacteria* (в широком смысле, включая *Pseudomonadota*) описываются как основной тип, играющий ключевую роль в процессах деструкции органики и участии в круговороте биогенных элементов (Shanks et al., 2013; Zhang et al., 2019; Azli et al., 2022). В крупных очистных сооружениях Южной Кореи и Вьетнама *Proteobacteria* также были наиболее многочисленным типом во всех образцах активного ила, что подтверждает формирование функциональной основы микробиома очистных сооружений на основе этой группы в самых разных климатических и технологических условиях (Kim et al., 2019).

Другими многочисленными типами в настоящем исследовании определены *Bacillota* I (92 %) и *Actinomycetota* (84 %), при заметном вкладе *Bacillota_A_368345* (64 %), *Bacteroidota* (64 %), *Planctomycetota* (56 %), *Verrucomicrobiota* (60 %), *Patescibacteria* (56 %) и *Cyanobacteriota* (8 % исследуемых проб, но с высокой относительной численностью) в ряде проб. Аналогичные комбинации доминирующих типов показаны для полномасштабных муниципальных очистных сооружений в Азии и Европе, где *Firmicutes/Bacillota*, *Actinobacteriota* и *Bacteroidota*, как правило, формируют основную часть сообщества после *Proteobacteria* (Azli et al., 2022; Begmatov et al., 2022; Ma et al., 2023). Эти группы неоднократно ассоциируются с разложением сложной органики (*Bacteroidota*), устойчивостью к неблагоприятным факторам окружающей среды и спорообразованием (*Bacillota*), а также с участием в циклах азота и фосфора (*Actinomycetota*, *Planctomycetota*), что указывает на то, что выявленная в нашей работе структура сообществ на уровне типа соответствует глобально описанному функциональному профилю микробиома сточных вод (Kalinowska et al., 2022).



Рисунок 2 – Относительная численность бактериальных сообществ на уровне типа. Каждая строка отражает один образец; места отбора проб сгруппированы по этапам очистки.

Менее многочисленные, но стабильно выявляемые таксоны включали типы *Chloroflexota* (36 %), *Desulfobacterota_G_459543* (28 %), *Campylobacterota A* (24 %). Представители типа *Chloroflexota* могут входить в состав активного ила, формируя флоккулы, и участвуют в разложении органических соединений при стабильной работе сооружений (Kalinowska et al., 2022).

Определение количества встречающихся типов на разных этапах очистки варьировалось. Неочищенные СТВ из приемной камеры, а также проба из коллектора городской канализации г. Аксая (№ 18) характеризовались самым низким таксономическим разнообразием на уровне типа: 4 – 10 из 24 идентифицированных. В то время как пробы активного ила, в том числе пена на аэротенке (№ 23), имели более высокое разнообразие (8 – 15 типов). Сточные воды после всех этапов очистки имели высокую вариативность типового состава (2 – 16 типов), что может быть связано со смешением микрофлоры канализационного стока и компонентов активного ила, а также эффективностью работы очистных сооружений. Микробиом

водоемов-приемников очищенных СТВ (№ 3, 11, 25) включал 7 – 10 типов, причем, в отличие от вышеперечисленных, значительный вклад в биоразнообразие вносит тип аутохтонной микрофлоры Cyanobacteriota.

Российские исследования крупных московских очистных сооружений также показали, что ограниченный набор примерно из 10-11 типов, включая Proteobacteria, Bacteroidota, Actinobacteriota, Chloroflexi, Firmicutes, Verrucomicrobiota и Planctomycetota, обеспечивает более 90% всех прочтений 16S рРНК, что близко к таксономической структуре, наблюдаемой в настоящем исследовании (Begmatov et al., 2022; Begmatov et al., 2024). Более подробный обзор таксономической структуры на более низких таксономических уровнях представлен на рисунках (Приложения 2 – 5), где показан состав сообществ на уровне классов, порядков и семейств, соответственно.

На уровне родов (Рисунок 3) структура сообщества в значительной степени определялась представителями рода *Pseudomonas*, в частности *Pseudomonas* E 647464. Доминирование *Pseudomonas* spp. часто отмечается в муниципальных и промышленных очистных сооружениях, где эти бактерии участвуют в деградации широкого спектра органических соединений и могут выступать в качестве хозяев АРГ (Xie et al., 2022). В глобальном анализе микробиома сточных вод *Pseudomonas* и другие представители класса Gammaproteobacteria определяются как таксоны, общие для разных континентов, что позволяет рассматривать высокую относительную численность *Pseudomonas* в исследуемых образцах как типичную особенность сообществ сточных вод (Azli et al., 2022; Седова и др., 2025). Представители родов *Trichococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* 388775 также, часто выявлялись, в особенности, их повышенное содержание было характерно для неочищенных СТВ в приемной камере КОС и пробах активного ила. Стрептококки и бифидобактерии являются комменсальными бактериями желудочно-кишечного тракта, тем самым выступают как индикаторы фекального загрязнения. Их повышенная относительная численность в

канализации объясняется высокой фекальной нагрузкой, но их содержание снижалось после биологической очистки.

Пробы активного ила характеризовались более высоким уровнем микробного разнообразия, в отличие, в неочищенных СТВ. В составе родов доминировали, помимо описанных ранее *Pseudomonas* E 647464, *Trichococcus* и *Psychrobacter*, неклассифицированные представители семейств *Planctomycetaceae* и *Rhodobacteraceae*. Бактерии семейства *Planctomycetaceae* участвуют в образовании флоккул активного ила, биопленок в биореакторных системах, разложении органических субстратов. Также, *Unclassified_Rhodobacteraceae* входят в состав флоккул и окисляют растворенную органику, участвуют в цикле серы и углерода, процессе денитрификации. Среди функционально-активных родов активного ила встречались сероокисляющие бактерии (*Thiobacillus*, *Thiothrix_606507*), нитрификаторы (*Nitrosomonas*), фосфатаккумулялирующие бактерии (*Accumulibacter*).

Состав микробиоты сточных вод после цикла очистки представлял собой консорциум из родов, выявляемых в СТВ на входе в очистные сооружения с заметным вкладом представителей активного ила. Наибольшее относительное содержание характерно для аэробных родов *Pseudomonas* E 647464, *Brevundimonas*, *Acinetobacter*, *Unclassified_Planctomycetaceae* и *Unclassified_Rhodobacteraceae*. Причем, для проб КОС г. Новошахтинска (№ 21 – 24), в целом, характерно наиболее высокое разнообразие всех таксонов.

На уровне видов *Pseudomonas* E 647464 *ludensis*, виды рода *Psychrobacter* (*P. sanguinis*, *P. pulmonis*, *P. psychrobacillus*), а также неклассифицированные представители семейств *Psychrobacteraceae* и *Rhodobacteraceae* вместе составляли существенную долю микробиоты во многих образцах. Сходные психротолерантные и стрессоустойчивые таксоны описаны в очищенных сточных водах и местах сброса сточных вод в умеренных и холодных регионах, где предполагается, что они обладают

преимуществами при колебаниях температуры и уровня питания (Максимова и др., 2019).

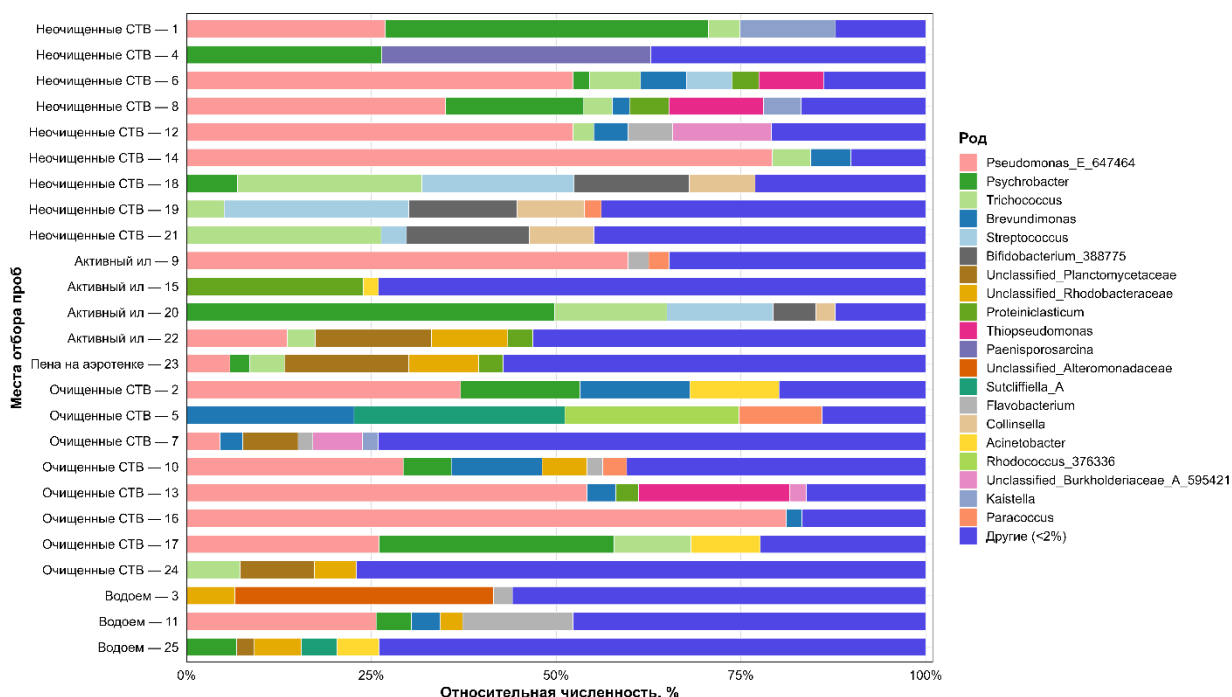


Рисунок 3 – Относительное обилие бактериальных сообществ на уровне рода. Каждая строка отражает один образец; места отбора проб сгруппированы по этапам очистки.

В ряде образцов отмечались высокие показатели относительной численности *Sutcliffeiella aorikoshii*, *Proteiniclasticum ruminis* A и *Exiguobacterium* A, тогда как в образцах мест сброса сточных вод существенную долю составляли цианобактериальные таксонами, такие как *Cyanobium* A 31255 *gracile*. Обилие *Exiguobacterium* может быть связано с их широким диапазоном устойчивости к неблагоприятным факторам среды, таким как повышенные содержания солей, тяжелых металлов, высокие значения температур и pH (Vishnivetskaya et al., 2009).

При сравнении с российскими очистными сооружениями Москвы (Begmatov et al., 2022; Begmatov et al., 2023) и Перми (Максимова и др., 2019) таксономические профили, полученные в настоящем исследовании, близки к данным для крупных Московских станций, где доминировали типы *Pseudomonadota/Proteobacteria*, *Bacillota/Firmicutes*, *Actinomycetota*,

Bacteroidota, Chloroflexi/Chloroflexota, Planctomycetota и описан сходный набор родов, включая *Pseudomonas*.

В целом результаты метапрофилирования подтверждают существование глобально консервативного набора доминирующих типов и родов в бактериальных сообществах сточных вод, тогда как вариабельность между объектами и датами отбора в основном связана с эксплуатационными параметрами, характеристиками притока и локальными условиями среды, а не с наличием уникальных таксонов.

Анализ альфа-разнообразия с использованием индексов Шеннона, Симпсона, Чао1 и Пиелу не выявил статистически значимых различий в разнообразии бактериальных сообществ между местами отбора (Рисунок 4А-Г), городами (Рисунок 4Д-З) и датами отбора проб (Рисунок 4И-М) ($p > 0,05$ по критерию Краскела–Уоллиса для всех сравнений). При этом в ряде случаев (например, № 8 и 9 КОС г. Новошахтинска) наблюдались более высокие медианные значения индексов, однако эти различия не достигали статистической значимости, что указывает на относительную стабильность богатства и выравненности сообществ в исследованном диапазоне условий. Похожие результаты получены для городских сточных вод США (LaMartina et al., 2021), где значения альфа-разнообразия в течение года и между станциями менялись слабо, тогда как сильнее варьировал таксономический состав сообществ. Результаты показывают, что богатство, выравненность и разнообразие бактериальных сообществ оставались относительно стабильными, без выраженной кластеризации по месту отбора, географическому положению или дате отбора проб на основании одних лишь метрик альфа-разнообразия.

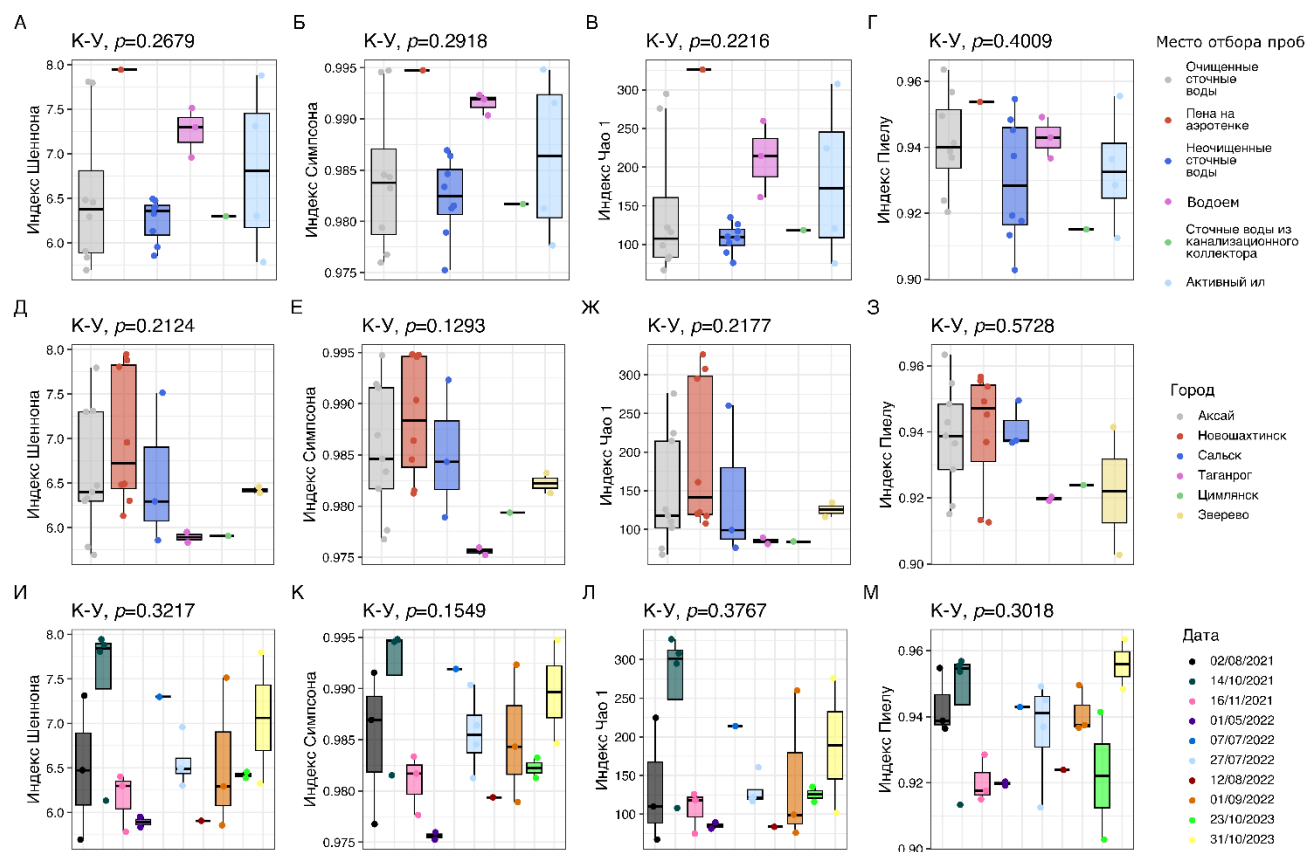


Рисунок 4 – Альфа-разнообразие бактериальных сообществ в разных биотопах (А-Г), городах (Д-З) и в разные даты отбора проб (И-М). Разнообразие оценено с использованием индексов Шеннона (А, Д, И), Симпсона (Б, Е, К), Чао 1 (В, Ж, Л) и Пиелу (Г, З, М). На диаграммах размаха показаны медиана, межквартильный размах и значения отдельных образцов; цвет обозначает биотопы, города или даты отбора проб. Тест Краскела-Уоллиса (К-У) не выявил статистически значимых различий в альфа-разнообразии ни по одному из исследованных факторов ($p > 0,05$).

Анализ бета-разнообразия на основе несходства Брея-Кертиса (Рисунок 5) показал высокую общую несхожесть бактериальных сообществ между всеми образцами: попарные расстояния варьировали от 0,87925 до почти 1,0. Это свидетельствует о том, что, несмотря на наличие общих таксонов, состав сообществ существенно различался между точками, городами и датами отбора.

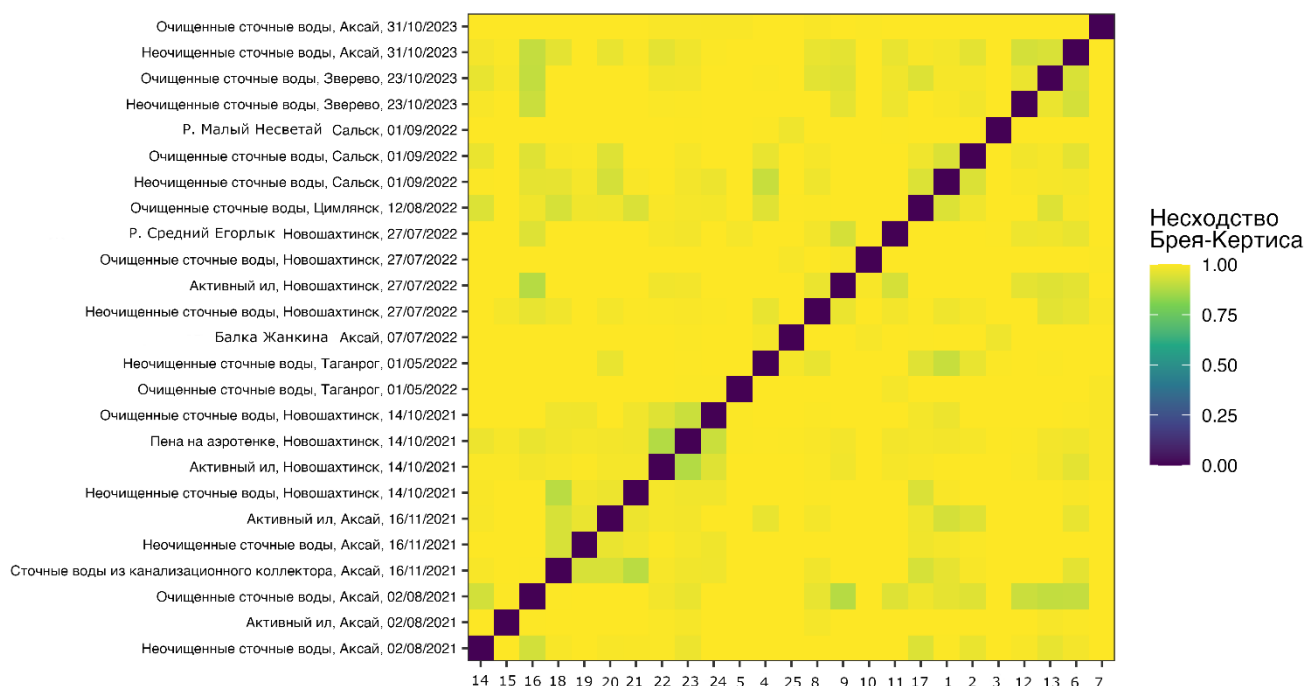


Рисунок 5 – Тепловая карта значений несходства Брея-Кертиса между бактериальными сообществами из всех исследованных точек отбора проб. Каждая ячейка отражает попарное композиционное несходство между двумя образцами; значения варьируют от 0 (идентичный состав, темно-фиолетовый цвет) до 1 (полное несходство, желтый цвет). Стабильно высокие значения несходства ($>0,87$) указывают на выраженную вариабельность состава сообществ между местами, городами и датами отбора проб.

Диаграммы главных координат (PCoA) (Рисунок 6) не выявили четких кластеров ни по месту отбора (Рисунок 6А), ни по городу (Рисунок 6В), ни по дате отбора проб (Рисунок 6С), что согласуется с результатами PERMANOVA (таблица 3): статистически значимых различий в составе сообществ для факторов «биотоп» ($p = 0,779$) и «город» ($p = 0,122$) не обнаружено, тогда как дата отбора проб оказала значимое влияние ($p = 0,001$).

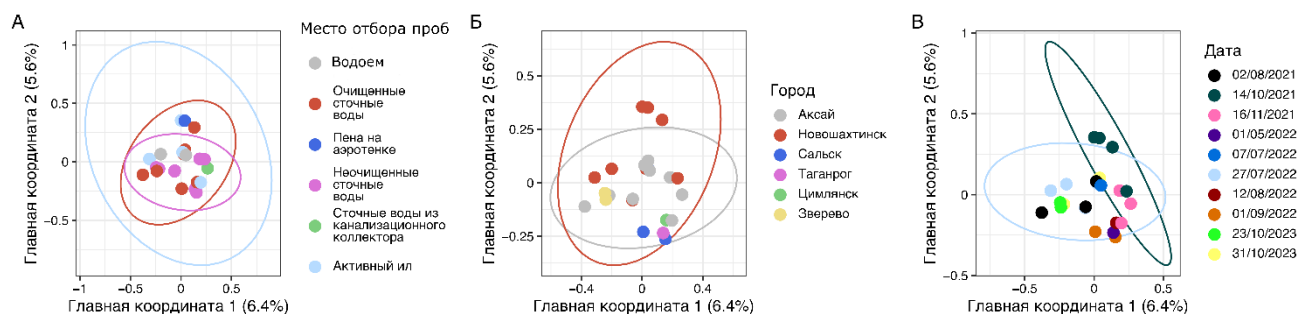


Рисунок 6 – Диаграммы анализа главных координат (PCoA), построенные на основе несходства Брея–Кертиса и иллюстрирующие различия в составе бактериальных сообществ по точкам отбора (А), городам (Б) и датам отбора проб (В). Точки соответствуют отдельным пробам и окрашены в соответствии с соответствующим фактором, эллипсы обозначают 95%-ные доверительные интервалы.

Таблица 3 – Результаты пермутационного многомерного дисперсионного анализа (PERMANOVA) данных бета-разнообразия бактериальных сообществ, основанных на несходстве Брея–Кертиса

Параметр	Количество степеней свободы	Сумма квадратов	R ²	F	p
Место отбора проб	5	2,4011	0,2051	0,9805	0,779
Населенный пункт	5	2,4951	0,21312	1,0292	0,122
Дата отбора	9	4,6333	0,39576	1,0916	0,001

В работе LaMartina et al., 2021 для городских сточных вод США средние значения несходства Брея-Кертиса между пробами разных дней также превышали 0,8, а между сезонами нередко приближались к 0,9, что интерпретировалось как высокая вариативность состава сообществ при наличии общих таксонов. Для европейских КОС в исследовании De Celis et al., 2020 несходство Брея-Кертиса между выборками разных месяцев находились преимущественно в интервале 0,75-0,95, причем рост расстояния был прямо связан с увеличением временного интервала между пробами.

Анализ дифференциального обилия (DAA) выявил несколько бактериальных таксонов с существенными различиями относительной численности между биотопами, городами и датами отбора проб (Рисунок 7). На уровне порядков (Рисунок 7А) Rickettsiales, Exiguobacterales и Solirubrobacterales имели высокую относительную численность в пробе водоема-приемника КОС г. Аксая (№ 25, р. Темерник). На уровне семейств (рисунок 7Б) *Exiguobacteraceae* и *Solirubrobacterales* 70–9 характеризовались

высоким относительным содержанием в образце № 25, тогда как семейство *Xanthobacteraceae* показало схожую численность в пробах № 21–24 КОС г. Новошахтинска на всех этапах отбора. Это может указывать на то, что временной фактор влияет не только на общую структуру сообществ (что показано анализом бета-разнообразия), но и на распределение отдельных экологически значимых групп. Подобные сезонно-специфичные особенности на уровне порядков и семейств описаны для городских сточных вод и активного ила в ряде исследований, где повышение относительной численности отдельных таксонов связывают с изменениями температуры, приточной нагрузки и состава органического субстрата (Fan et al., 2017; de Celis et al., 2020; Huang et al., 2021).

На уровне родов (Рисунок 7В) *Exiguobacterium* A (1,05 %) и неклассифицированные представители порядка *Solirubrobacterales* 70-9 (3,80 %) обнаруживались в пробе № 25, при этом *Exiguobacterium* A встречалось в большей относительной численности в Цимлянске (№ 17 - 17,08 %). Рода *Gemmiger* A 73129 (№ 19 – 2,21 %), *Catenibacterium* (0,93 – 2,82 %), *Gemmobacter* C (№ 18 – 3,18, № 19 – 2,58 %) выявлялись в образцах № 18 – 20. Неклассифицированные представители семейства *Arcobacteraceae* обнаруживались в Зверево (№ 12 – 5,82, № 13 – 2,53 %); а род *Algoriphagus* – в водоемах-приемниках (0,48 – 4,06 %).

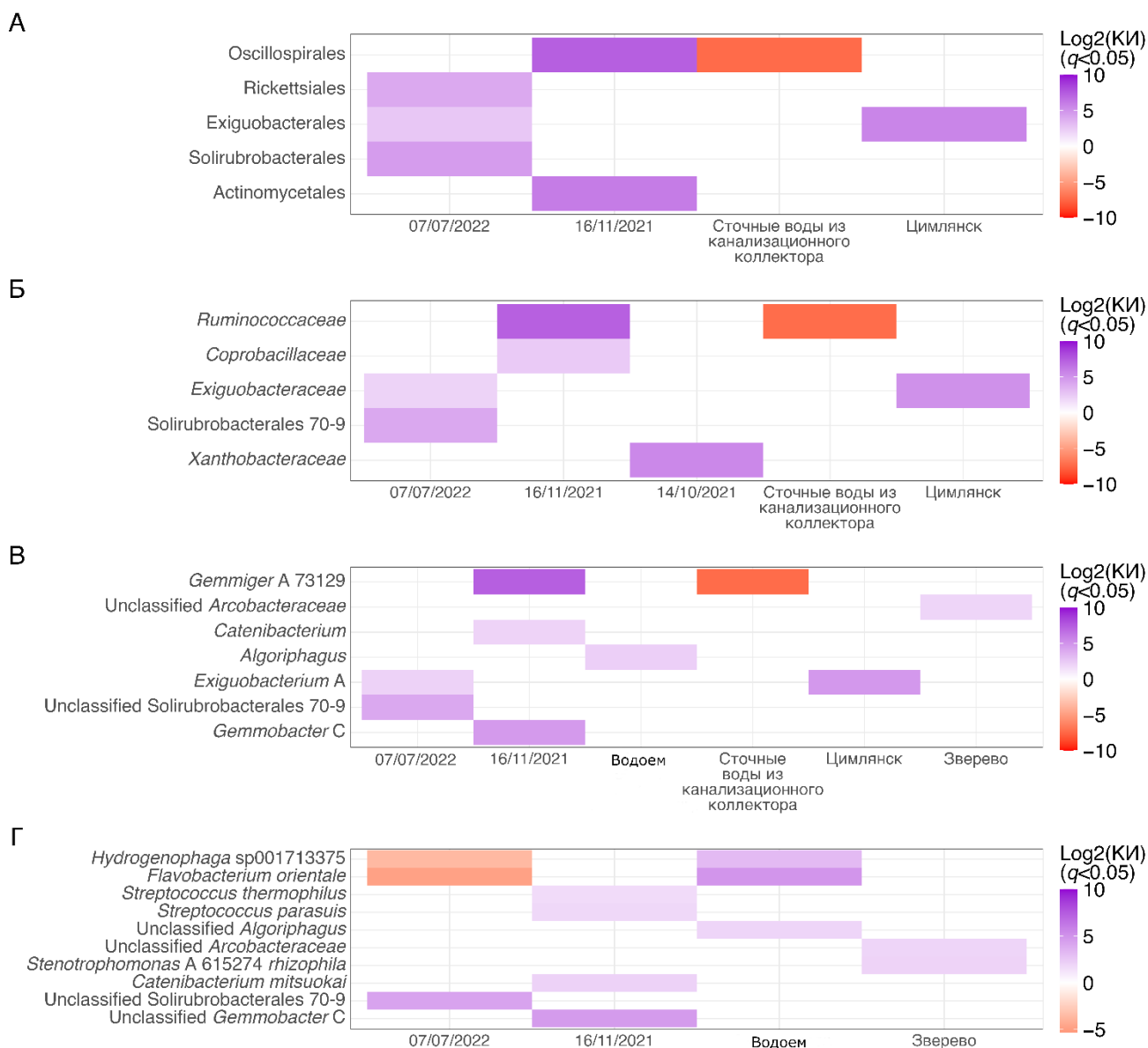


Рисунок 7 – Бактериальные таксоны со статистически значимой дифференциальной представленностью (разницей относительной численности) в различных местах, городах и датах отбора проб, выявленные с помощью многомерного анализа ассоциаций (MaAsLin2). Тепловые карты показывают значимые ассоциации ($q < 0,05$) на рангах порядка (А), семейства (Б), рода (В) и вида (Г). Цвет отражает значения $\text{Log}_2(\text{КИ})$, где КИ - кратное изменение: фиолетовый цвет соответствует повышенной представленности, а оранжевый - пониженной представленности по сравнению с референтными категориями (КОС г. Аксай, 27/07/2022).

Анализ на видовом уровне (Рисунок 7Г) показал более низкую относительную численность видов *Hydrogenophaga* sp001713375 (1,73 %) и *Flavobacterium orientale* в пробе № 25 (3,30 %) и их доминирование в других водоемах зоны сброса (№ 3, 11). Содержание видов *Streptococcus thermophilus* (1,21 – 2,62 %), *Streptococcus parvus* (7,84 – 16,96 %), характерно для проб № 18 – 20, а *Stenotrophomonas A 615274 rhizophila* (0,82, 2,40 %) в КОС г. Зверев. Диаграммы на рисунке 8 демонстрируют относительную численность видов бактерий, статистически значимо ассоциированных с факторами, выявленными на рисунке 6, подтверждая место отбора проб-, город- и дата-специфичные паттерны. Подробные диаграммы для результатов DAA на уровне родов, семейств и порядков приведены на рисунках (Приложения 6 – 8).

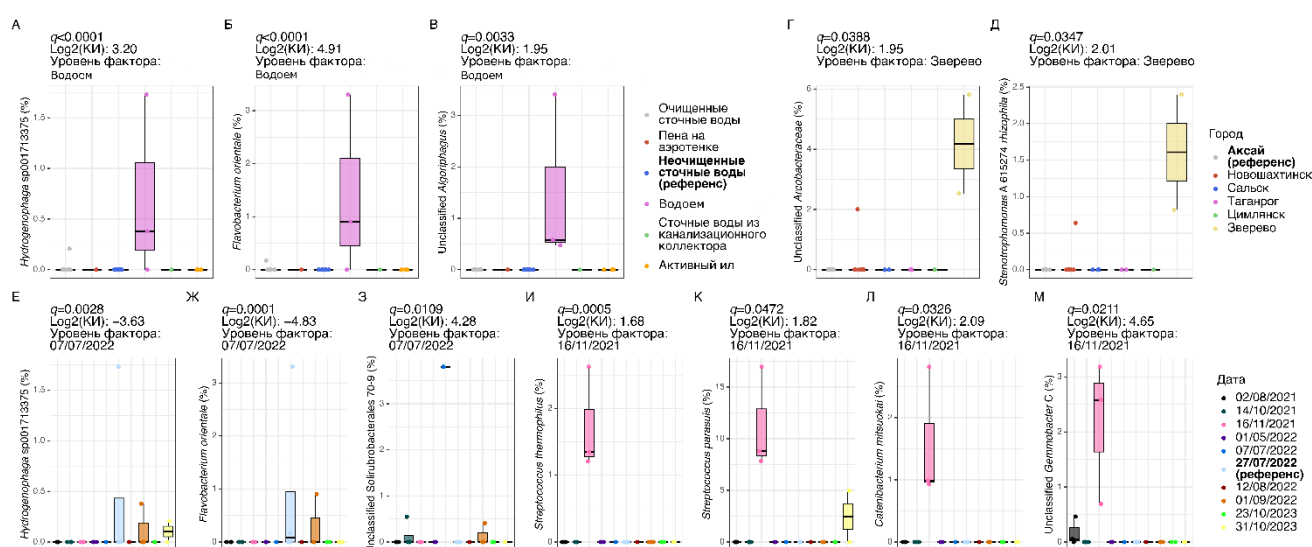


Рисунок 8 – Относительная численность бактериальных таксонов на ранге вида с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2 ($q < 0,05$), в различных сайтах (А-В), городах (Г-Д) и датах отбора проб (Е-М). На диаграммах размаха показаны медиана, межквартильный размах и значения отдельных образцов; цвет обозначает категории биотопа, города или даты отбора проб. Указанный на каждом графике уровень фактора соответствует конкретной категории исследуемого фактора, для которой выявлена значимая ассоциация относительно референтной категории.

Референтные категории выделены полужирным шрифтом в условных обозначениях.

В совокупности полученные результаты показывают, что, несмотря на отсутствие статистически значимых различий по альфа-разнообразию между биотопами и городами, микробные сообщества сточных вод демонстрируют выраженную структурную неоднородность, которая проявляется в смене доминирующих и сопутствующих таксонов в зависимости от сезона, города и места отбора. Для практики мониторинга сточных вод это означает, что учет не только интегральных метрик разнообразия, но и дифференциального обилия ключевых индикаторных таксонов может повысить уровень оценки состояния очистных сооружений и рисков для водоемов мест сброса.

Структура микробиома включает в себя следующие доминирующие типы: *Pseudomonadota*, *Bacillota* I, *Actinomycetota*, *Bacillota* A 368345, *Bacteroidota*, *Planctomycetota*, *Verrucomicrobiota*, *Patescibacteria* и *Cyanobacteriota* без выраженных различий в альфа-разнообразии между биотопами и городами, но с высоким бета-разнообразием и заметной временной и локальной вариабельностью состава сообществ. Для проб речной воды также было характерно обилие представителей типа *Cyanobacteriota*.

4.2 Содержание АРГ и интегронов в микробиомах очистных сооружений канализации

Результаты определения содержания АРГ и генов интеграз 1-3 классов в микробиомах проб воды КОС ряда городов Ростовской области представлены на рисунке 9.

Гены *intI1*, *tetO*, *aadA2*, *vanB*, *sul2*, *mecA*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{VIM}* обнаруживались в 100% исследуемых проб сточных вод (рисунок 9). Такая частота обнаружения подтверждает статус этих генов как стабильных индикаторов антропогенного загрязнения и постоянного присутствия АРГ в водной среде, а данные детерминанты могут рассматриваться как основной пул резистома муниципальных сточных вод (Rumky et al., 2022; Shamsizadeh et al., 2024).

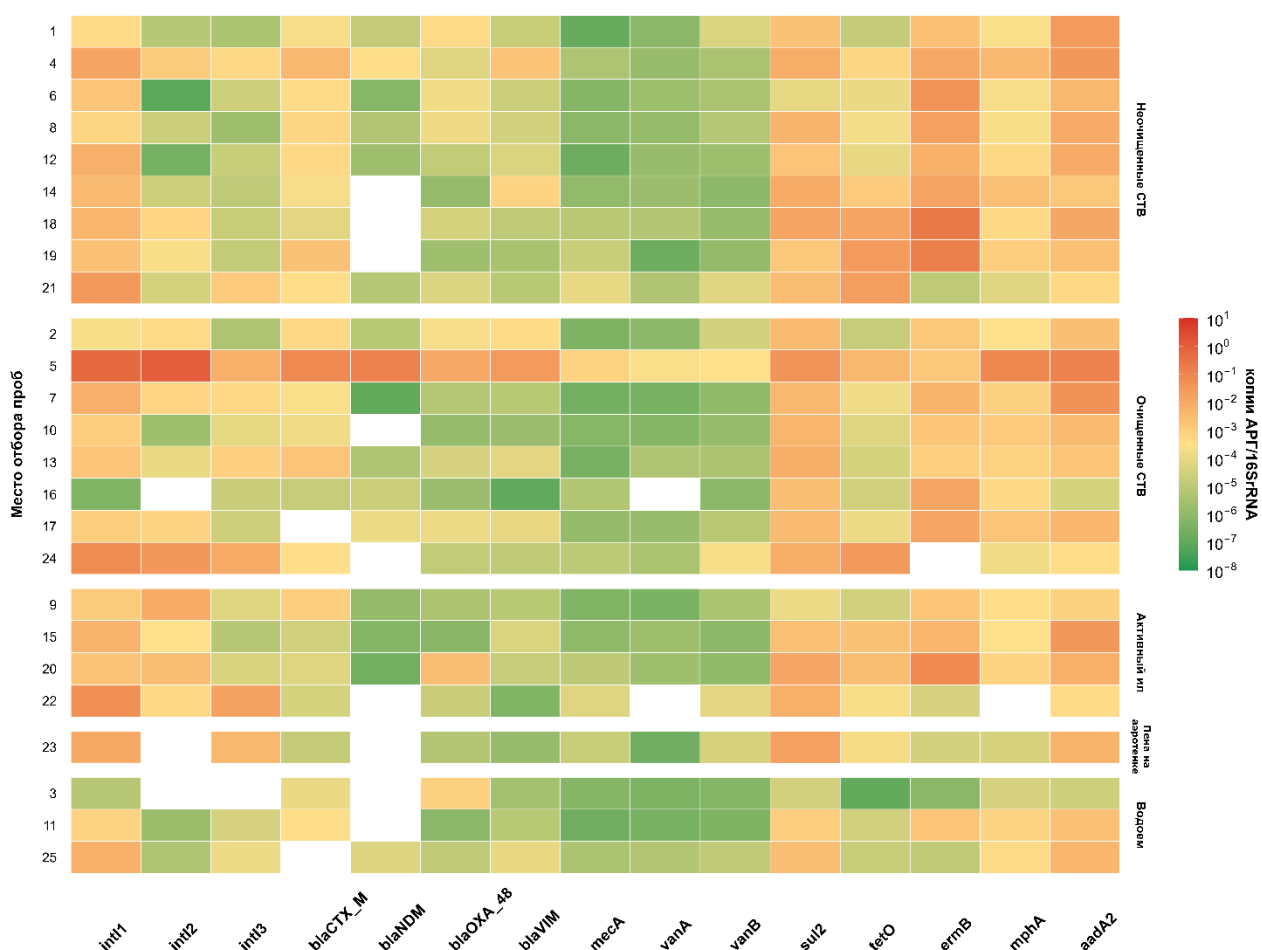


Рисунок 9 – Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в микробиомах проб воды очистных сооружений канализации (копий генов/16SpPHK)

Наиболее высокое значение относительного содержания (генов/16SpPHK) зафиксировано для генов интеграз (*intI1*, *intI2*) в пробе № 5 (сточные воды после обработки) и ряда АРГ, включая *tetO* ($3,13 \times 10^{-2}$), *aadA2* ($1,34 \times 10^{-1}$), *vanB* ($3,01 \times 10^{-4}$), *sul2* ($4,42 \times 10^{-2}$) и *mecA* ($7,40 \times 10^{-4}$), *bla*_{OXA-48} ($1,18 \times 10^{-2}$), *bla*_{VIM} ($2,92 \times 10^{-2}$), которые в большинстве проб находились на уровнях 10^{-3} – 10^{-2} , а в отдельных образцах достигали величин порядка 10^{-2} – 10^{-1} . Такой разброс содержания генов типичен для КОС и отражает как фоновый уровень содержания АРГ в коммунальных стоках, так и периодические всплески, которые могут быть связаны с поступлением сточных вод медицинских учреждений, либо стоков сельскохозяйственных ферм (Meng et al., 2025).

Реже всего в образцах выявляли ген *bla_{NDM}* – 60% исследуемых проб. У проб № 3 (р. Малый Несветай), 22 (активный ил), 24 (очищенные СТВ) наблюдался наименьший процент выявленных детерминант устойчивости (80%). Гены устойчивости к бета-лактамам антибиотикам *bla_{CTX-M}*, *bla_{NDM}* и *bla_{OXA-48}* присутствовали практически во всех пробах. В образцах с меньшим содержанием АРГ их значения чаще в диапазоне $10^{-5} - 10^{-3}$, но встречались пики до $10^{-2} - 10^{-1}$ (например, *bla_{CTX-M}* – $1,95 \times 10^{-3}$ в пробе № 13, *bla_{OXA-48}* – $1,18 \times 10^{-2}$ в пробе № 5). Присутствие генов БЛРС в очищенных сточных водах может свидетельствовать о том, что очистные сооружения имеют низкую эффективность элиминации АРБ и АРГ (Prieto Riquelme et al., 2022). Работа Begmatov et al, 2024 по исследованию резистоста очистных сооружений Московской области подтверждает данную тенденцию в отношении бета-лактамов, в отличие от макролидов и тетрациклинов.

АРГ к гликопептидам и метициллину *vanA/vanB* и *mecA*, как правило, определялись на уровне $10^{-6} - 10^{-4}$ копий; их присутствие также может свидетельствовать о поступлении госпитальных стоков, но по относительному содержанию копий они уступали *sul2*, *aadA2*, *mphA* и интегронам. В совокупности полученный профиль подтверждает, что сточные воды являются резервуаром АРГ и АРБ, где стабильно обнаруживались широко распространенные гены интеграз и АРГ к тетрациклинам, сульфонидами, аминогликозидам, а также клинически-значимые АРГ (АРГ к бета-лактамам и гликопептидным антибиотикам), требующие мониторинга распространения в объектах окружающей среды.

Помимо исследования содержания АРГ в тотальной ДНК проб сточных вод и поверхностных водоемов в местах сброса сточных вод, определяли их относительное содержание в геномной ДНК бактерий, выделенных из этих проб воды. Всего было исследовано 48 штаммов условно-патогенных (*S. freundii*, *Enterococcus sp.*, *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) и патогенных (*S. enterica*) бактерий, которые относятся к этиологически-значимым микроорганизмам, ассоциированным с

антибиотикорезистентностью. Наиболее часто обнаруживались гены *aadA2* (100% культур), *bla_{CTX-M}* (89,6%), *ermB* (72,9%), *mphA* (66,7%) и *sul2* (64,6%) (рисунок 10). Такая высокая распространенность генов, кодирующих резистентность к аминогликозидам, β-лактамам, макролидам и сульфонидамидам, свидетельствует о высоком уровне антропогенного загрязнения (Shamsizadeh et al., 2024; Majeed et al., 2021). Повышенные значения относительного содержания (10^{-2}) характерны для *intI1*, *intI2*, *aadA2*, *ermB*, *vanA*, *vanB*, *sul2*, *bla_{CTX-M}*, *mphA*. Ген устойчивости к метициллину (*mecA*) не был обнаружен ни у одной из исследуемых бактерий. К наиболее редко встречающимся можно отнести ген интеграз 3 класса (*intI3*), гены устойчивости к ванкомицину (*vanA*, *vanB*) и *bla_{NDM}* (2,1–6,2% исследуемых культур). Такая низкая частота детекции характерна для АРГ к гликопептидам и карапенемам, т.к. эти детерминанты более специфичны для клинических изолятов и встречаются эпизодически в сточных водах, обычно в связи с поступлением госпитальных стоков. Ген *intI3* также редко встречался в сточных водах, что подтверждает его ограниченную роль в ГПГ генов резистентности в сравнении с *intI1* и *intI2* (Ju et al., 2019). В целом, данная частота характерна и для образцов тотальной ДНК.

Микроорганизмы с наибольшим числом АРГ (до 10 генов) – это представители видов *C. freundii*, *S. enterica* и *E. coli*. Грамотрицательные энтеробактерии, особенно из семейства *Enterobacteriaceae*, в том числе штаммы из образцов сточных вод, часто служат основными хозяевами МГЭ и множества АРГ, в частности БЛРС (Маккаев et al., 2021; Mutuku et al., 2022).

Ряд исследователей, изучающих распространение БЛРС-продуцирующих энтеробактерий в пробах СТВ на разных этапах очистки сообщали, что в медицинских СТВ обнаруживались *bla_{IMP-1}*, *bla_{IMP-2}*, *bla_{OXA-23}*, *bla_{PER}*, *bla_{VEB}*, *bla_{GES}*, *bla_{CTX-M1}*, *bla_{CTX-M9}*, *bla_{SHV}* (Amaya et al., 2012; Fróes et al., 2016; Khan et al., 2019). Также, сообщалось об обнаружении в больничных СТВ Франции и Люксембурга *intI3* на небольших плазмидах с

оксациллиназой кассетой генов *bla*_{OXA-10}, *bla*_{OXA-368} или *bla*_{OXA-2} (Simo Tchuente et al., 2016).

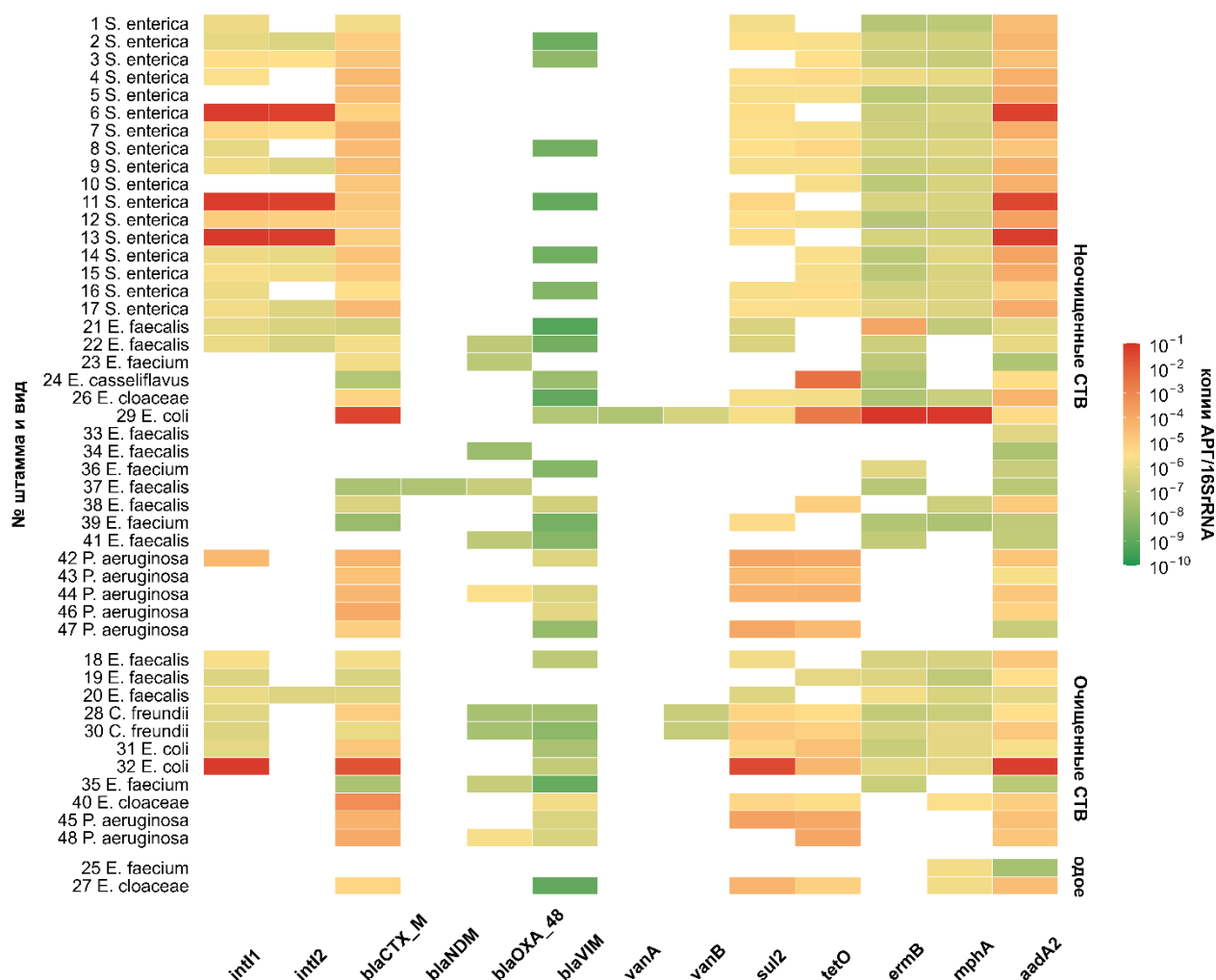


Рисунок 10 – Содержание ARG и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов проб воды очистных сооружений канализации (копий генов/16SpPHK).

Виды *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. casseliflavus* и *P. aeruginosa* демонстрировали минимальное число ARG (1–7 генов). Это может указывать на специфичность их экологических ниш внутри системы очистки сточных вод, где они менее вовлечены в ГПП, либо имеют другой набор ARG и МГЭ, которые в исследовании не рассматривались.

Результаты исследований детерминант, обуславливающих устойчивость бактерий рода *Pseudomonas*, изолированных из больничных СТБ Бразилии показали, что резистентность в бета-лактамных антибиотикам была обусловлена работой эффлюкс-насосов, а не продукцией БЛРС. Кроме того,

41,9% исследуемых штаммов имели ген *intI1* (Spindler et al., 2012). Позднее, в работе Monteagudo de Barros et al., 2024 у *P. aeruginosa* сточных вод Юга Бразилии были обнаружены гены бета-лактамаз *bla_{NDM}* и *bla_{SPM}*, возможно, ассоциированные с устойчивостью к цефалоспорином.

Изучение генетической связи между штаммами *P. aeruginosa* из сточных вод и природных источников путем сравнения методом энтеробактериальных повторяющихся межгенных консенсусных последовательностей не выявило родства изолятов. Было показано, что в этих средах сформировались генетически различающиеся популяции, и, вероятно, какой-то другой источник загрязнения мог способствовать появлению устойчивых штаммов в поверхностных водоемах (Fuentefria et al., 2011). В таком случае могли рассматриваться непосредственные сапрофитные изоляты *P. aeruginosa*. Тем не менее, современные метагеномные исследования показывают, что клинические изоляты синегнойных палочек с одинаковыми профилями резистентности обнаруживались в сточных водах лечебно-профилактических учреждений (Ma et al., 2023).

Условно-патогенные виды энтерококков (*E. faecium*, *E. hirae*, *E. faecalis*), выделенные из очищенных СТВ очистных сооружений Польши и р. Вислы, проявляли резистентность к эритромицину, тетрациклину, ампициллину, фторхинолонам и аминогликозидам. Среди *E. faecium*, выявлялись штаммы с мультилокусными типами последовательностей, связанные с внутрибольничными линиями клонов высокого риска (ST17, ST18, ST78) (Sadowy, Luczkiewicz, 2014).

Полученные результаты подчеркивают необходимость комплексного подхода к мониторингу антибиотикорезистентности в сточных водах, включающего не только качественную и количественную оценку основных клинически-значимых для человека АРГ, но и учет биологических хозяев этих генов. Высокая АРГ-нагрузка у представителей семейства *Enterobacteriaceae* и относительно низкая у *Enterococcus spp.* и *P. aeruginosa* позволяет выделить

приоритетные виды-индикаторы для мониторинга
антибиотикорезистентности в сточных водах Ростовского региона.

4.3 Определение экотоксикологических эффектов проб сточных вод и поверхностных водоемов в местах сброса КОС

Результаты определения экотоксикологических параметров проб сточных вод и вод поверхностных водоемов в местах сброса сточных вод представлены на рисунках 11, 12 и в приложении С. Интегральную токсичность определяли по ответу lux-биосенсора *V. aquamarinus* ВКПМ В 11245 (Рисунок 12А), большинство проб сточных вод имели значения допустимой токсичности ($I < 20$) во всех рассмотренных разведениях, пробы вод поверхностных водоемов определены как нетоксичные. Во многих случаях значения индекса токсичности находились на уровне 2–15. Минимальные значения интегральной токсичности (T близкие к нулю) отмечались, например, у образцов № 6, 18, 19, 21, 22, что указывает практически на отсутствие выраженного токсического эффекта.

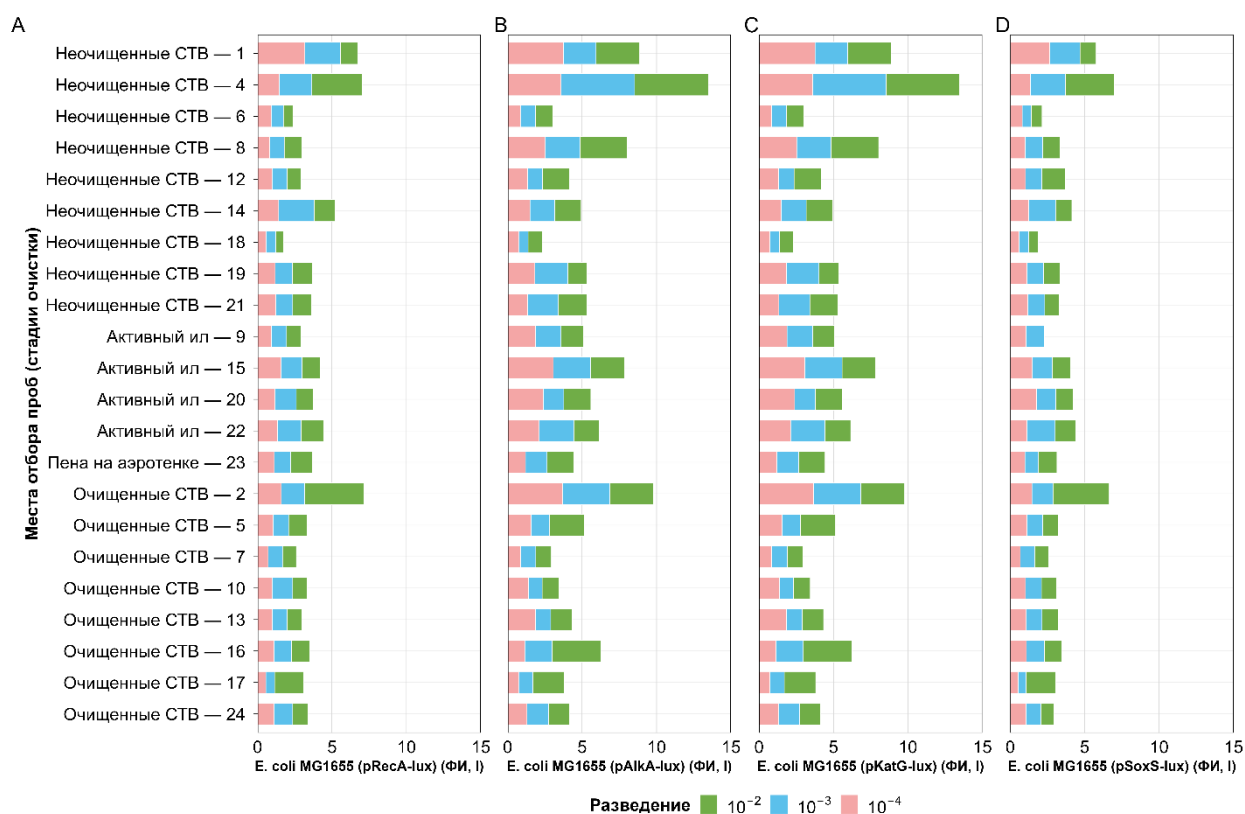


Рисунок 11 – Генотоксичность и прооксидантные свойства исследуемых проб сточных вод на разных этапах очистки КОС и поверхностных водоемов мест сброса.

Сравнение факторов индукции при определении генотоксического эффекта, определенных с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux) (Рисунок 11А) (ДНК-повреждение) показало, что индукция люминесценции в большинстве проб оставалась на уровне слабой токсичности ($I < 2,0$). Выраженный эффект, соответствующий среднему уровню токсичности ($2,0 \leq I \leq 10,0$) для *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), отмечался лишь в отдельных образцах: № 1 ($I = 2,38$ и $3,18$ в разведениях 10^{-3} и 10^{-4} соответственно), № 2 ($3,40$ и $2,19$ в разведениях 10^{-2} и 10^{-3} соответственно), № 14 ($2,37$ в разведении 10^{-3}). Максимальный показатель генотоксичности ($4,01$ в разведении 10^{-2}) определен в пробе № 2 (очищенные СТВ) в КОС г. Таганрога.

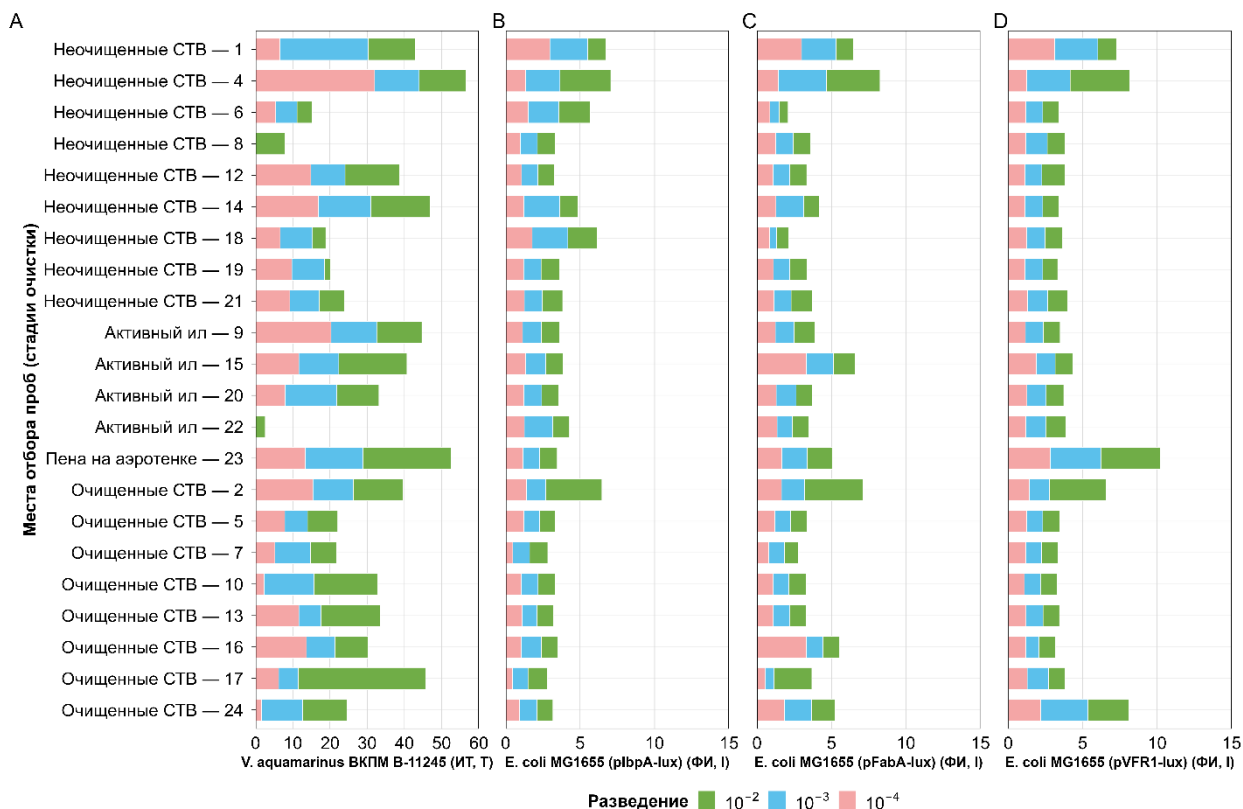
Определение генотоксичности с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) (наличие алкилирующих агентов) показало похожие результаты (Рисунок 11В), что и с биосенсором *E. coli* MG1655 (pRecA-lux). Значения фактора индукции в диапазоне «умеренной токсичности» продемонстрировали пробы № 1, 2, 4, а также № 5, 8, 15, 17, 19 - 22, что указывает на то, что для сточных вод Ростовской области было наиболее характерно содержание генотоксикантов, связанных с алкилирующими агентами. Наибольший фактор индукции также определен в пробе № 39 ($I = 4,94$ в разведении 10^{-2}). По показателям генотоксичности наибольшую токсичность наблюдали в пробах канализации г. Сальска, Аксая и Таганрога и очищенных сточных водах г. Аксая.

Для исследования наличия соединений, которые могут вызывать окислительный стресс, использовали штаммы *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) (Рисунок 11С) (пероксидный стресс) и *E. coli* MG 1655 (pSoxS-lux) (Рисунок 11D) (супероксидный стресс). Прооксидантные свойства сточных вод в большинстве случаев характеризовались слабой токсичностью ($I < 2,0$) по обоим биосенсорам, с эпизодическим переходом в диапазон средней токсичности ($2,0 \leq I \leq 10,0$) для отдельных проб и разведений. Умеренный окислительный стресс по *E. coli* MG 1655 (pSoxS-lux) зафиксировали в пробах № 1, 2, 4, 6, 14 и 18 ($2,2-3,77$, преимущественно в разведениях $10^{-2}-10^{-3}$), тогда

как по *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) умеренная токсичность наблюдалась в менее широком спектре образцов (№ 1, 2, 4) от минимального значения фактора индукции – 2,1 до максимального – 3,8. Это свидетельствует о том, что в компонентах сточных вод содержалось больше веществ, которые связаны с супероксидным стрессом.

Пробы речной воды имели слабую генотоксичность, за исключением № 25 (балка Жанкина), где фактор индукции биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) имел значение характерное для умеренной генотоксичности ($I = 2,33$).

Средняя интегральная токсичность ($20 \leq T < 50$) отмечалась только для образцов № 1 ($T = 23,7$ в разведении 10^{-3}), 4 ($T = 32$ в разведении 10^{-4} , в 10^{-2} и 10^{-3} $T < 20$), 9 ($T = 20,3$ в разведении 10^{-4}) (рисунок 12).



Наиболее выраженную токсичность показали образцы № 17 и 23, для которых при разведении 10^{-2} значения Т составляли соответственно 34 и 23,7, но при более высоких разведениях токсичность снижалась до допустимого уровня. Высокотоксичных проб выявлено не выявлено ($T > 50$).

Реакция биосенсора *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux) на присутствие веществ, повреждающих белки, была наиболее сильной в 6 образцах 1 (10^{-4} - 2,99), 2 (10^{-2} - 3,94), 4 (10^{-2} - 3,62), 15 (10^{-4} - 3,33), 16 (10^{-4} - 3,33), 17 (10^{-2} - 2,53). Для проб очищенных СТВ г. Аксая и Цимлянска и неочищенных СТВ г. Сальска было характерно возникновение умеренно-токсичных значений в разведениях 10^{-4} , что говорит о сохранении токсичности образцов при разведениях в 1000 раз. Токсичность проб сточных вод КОС г. Сальска, после прохождения очистки снизилась с 10^{-4} - 2,99 до 10^{-2} - 3,94; в пробах сточных вод КОС г. Аксая наблюдалась иная тенденция: неочищенные СТВ не обладали токсичностью, в отличие от проб АИ, поэтому СТВ после очистки, также, имели $I = 3,33$ в разведении 10^{-4} .

С помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pFabA-lux) (повреждение мембран) было выявлено 5 умеренно-токсичных проб. По-прежнему сохранялась тенденция снижения токсичности для КОС г. Сальска после очистки, также, уменьшение токсичности очищенных СТВ г. Таганрога. Образцы КОС г. Новошахтинка продемонстрировали динамику характерную для КОС г. Аксая – нетоксичные неочищенные СТВ после этапа очистки в аэротенках становились токсичными, причем, во всех исследуемых разведениях (№ 23: 10^{-2} (4,02), 10^{-3} (3,39), 10^{-4} (2,82); № 24: 10^{-2} (2,76), 10^{-3} (3,18), 10^{-4} (2,17)).

Биосенсор *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux) показал наличие веществ, активирующих аутоиндукторы системы *Quorum sensing*, в пробах: № 1, 2, 4, 6, 8, 15, 23, 24) было выявлено для биосенсора *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux). Высокие показатели фактора индукции $I > 2$ по данному биосенсору были характерны для проб неочищенных СТВ: № 1 (10^{-4} - 3,68); 4 (10^{-2} - 5,22), 10^{-3} - 4,46, 10^{-4} - 2,43; 6 (10^{-4} - 4,47); 8 (10^{-3} - 2,03). На ОСК г. Сальска, Таганрога,

Акская, Новошахтинска очищенные СТВ характеризовались отсутствием проб $I > 2$, что связано с элиминацией веществ, активирующих аутоиндукторы системы *Quorum sensing*.

В предыдущем исследовании Sazykin et al., 2016 результаты параметров экотоксичности сточных вод г. Ростова-на-Дону и Мюнхена, оцениваемые с помощью lux-биосенсоров *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, *Escherichia coli* MG1655 (pXen7), *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux), *E. coli* MG1655 (pKatG-lux), *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux), *E. coli* MG1655 (GrpE-lux), *E. coli* MG1655 (pFabA-lux), показали тенденцию слабой и средней токсичности, а также отсутствие высокотоксичных проб. В настоящем исследовании для большего числа умеренно-токсичных проб сточных вод Ростовской области было характерно присутствие веществ, ассоциированных с супероксидным стрессом (*E. coli* MG1655 (pSoxS-lux), а для работы Sazykin et al., 2016 – с пероксидным стрессом (*E. coli* MG1655 (pKatG-lux)). Показатели интегральной токсичности и генотоксичности имели схожую тенденцию. Исходя из пороговых значений интегральной токсичности, токсичным в исследовании оказался только образец сточных вод г. Ростова-на-Дону от 5 октября 2012 ($T = 20,83$). Сточные воды г. Мюнхена обладали средним уровнем генотоксичности, в г. Ростове-на-Дону показатель средней токсичности достигался только при использовании метаболической активации для биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux).

Полученные результаты свидетельствуют, что для сточных вод и поверхностных водоемов в местах сброса Ростовской области в большей степени характерно содержание алкилирующих агентов, которые определяют среднюю генотоксичность исследуемых проб, а также наличие аутоиндукторов, активирующих систему *Quorum sensing* грамотрицательных бактерий.

4.4 Взаимосвязь между таксономическим составом, содержанием АРГ и интегронов в микробиомах сточных вод

Анализ корреляции Спирмена не выявил статистически значимых ассоциаций между характеристиками бактериальных сообществ (в численности бактерий любого таксономического ранга), индексами альфа-разнообразия и содержанием АРГ после поправки на множественное тестирование. Это указывает на то, что общая структура микробных сообществ может не являться прямым фактором, влияющими на резистом микробных сообществ (Majeed et al., 2021; Mutuku et al., 2022). В исследовании Majeed et al. 2021 проводили метагеномный анализ резистома сточных вод на разных этапах очистки и определяли взаимосвязь между микробиомом и АРГ. При метагеномном подходе удалось выявить значимые корреляции между бактериальными таксонами и АРГ в очищенных сточных водах, при этом каждая исследуемая проба имела свой уникальный состав резистома, а корреляции были больше схожи с паттернами резистома региональных данных клинического надзора, чем с резистомом канализационных вод, поступающих на очистные сооружения.

Тем не менее, при определении взаимосвязи между содержанием АРГ и генами ингераз 1, 2, и 3 класса были обнаружены значимые корреляции (рисунок 13А). В культурах бактерий (рисунок 13В) были выявлены сильные положительные корреляции между геном устойчивости к аминогликозидам (*aadA2*) и *intI1*, *intI2*.

Ген устойчивости к сульфаниламидам (*sul2*) имел сильную положительную значимую корреляцию с *intI2*, а также почти идеальная корреляция выявлена между *intI1* и *bla_{OXA-48}*. Также были обнаружены отрицательные корреляции, наиболее заметная из которых – между *intI2* и *tetO*. В образцах тотальной ДНК проб воды статистически значимые положительные корреляции включали взаимосвязи между *intI1* и *mecA*, и *tetO*, в то время как *intI3* показывал значимую отрицательную корреляцию с *ermB*.

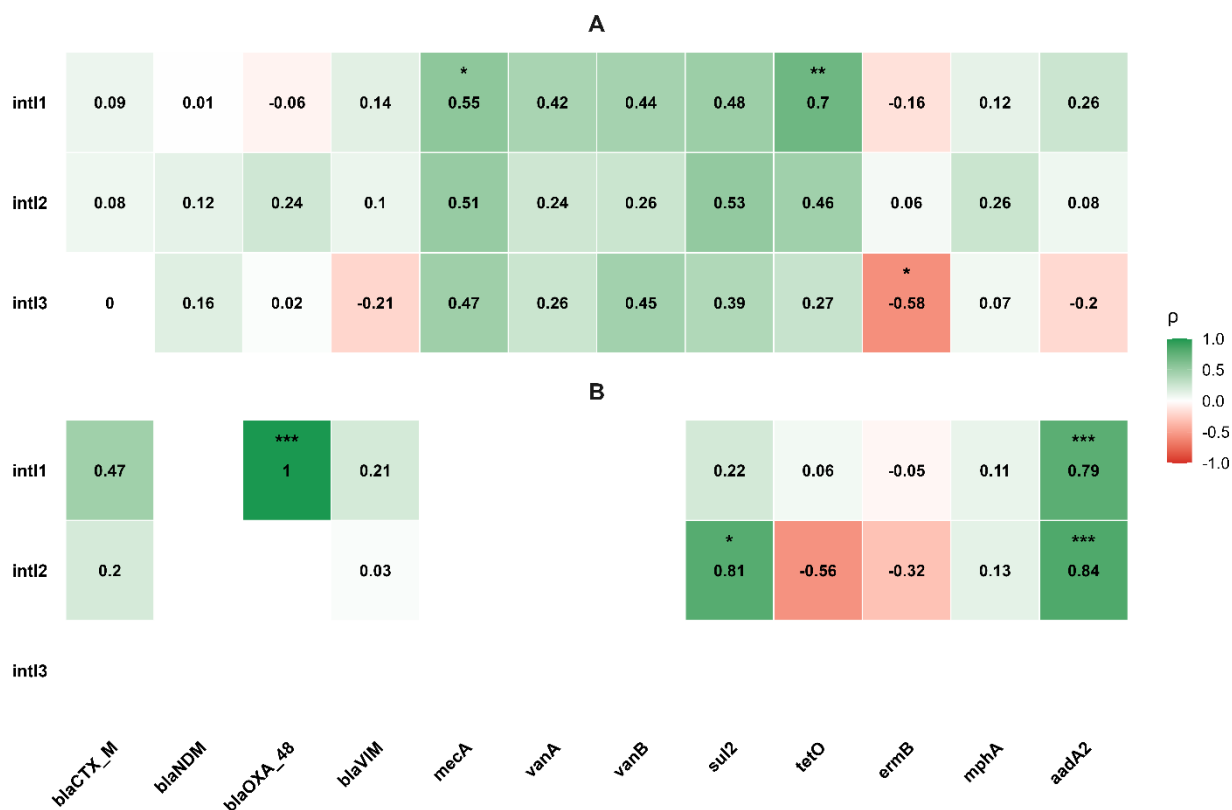


Рисунок 13 – Взаимосвязь между содержанием ARG и интегровов в пробах тотальной ДНК (А) и штаммах бактерий (В).

Полученные результаты подчеркивают, что в тотальной ДНК объектов окружающей среды, в частности, в сточных водах на разных этапах очистки и поверхностных водоемах в местах сброса сточных вод, в отличие от чистых культур, взаимосвязи могут быть более сложными и включать отрицательные значимые корреляции. Это наблюдение может быть связано с тем, что структура бактериальных водных сообществ неоднородна и содержит широкий спектр предполагаемых хозяев ARG (Ju et al., 2019; Makkaew et al., 2021). Положительная корреляция *intI1* с *mecA* и *tetO* в водных пробах может указывать на совместное поступление этих генов из общих источников (например, больничных стоков), тогда как отрицательная корреляция *intI3* с *ermB* может свидетельствовать о присутствии бактерий-хозяев, у которых данный ген устойчивости к макролидам находится в хромосомном геноме или в иных МГЭ (Gupta et al., 2003; Lan et al., 2025).

4.5 Содержание АРГ и интегров в микробиомах воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова

Результаты определения содержания АРГ в метагеномной ДНК образцов воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону представлены на рисунке 14.

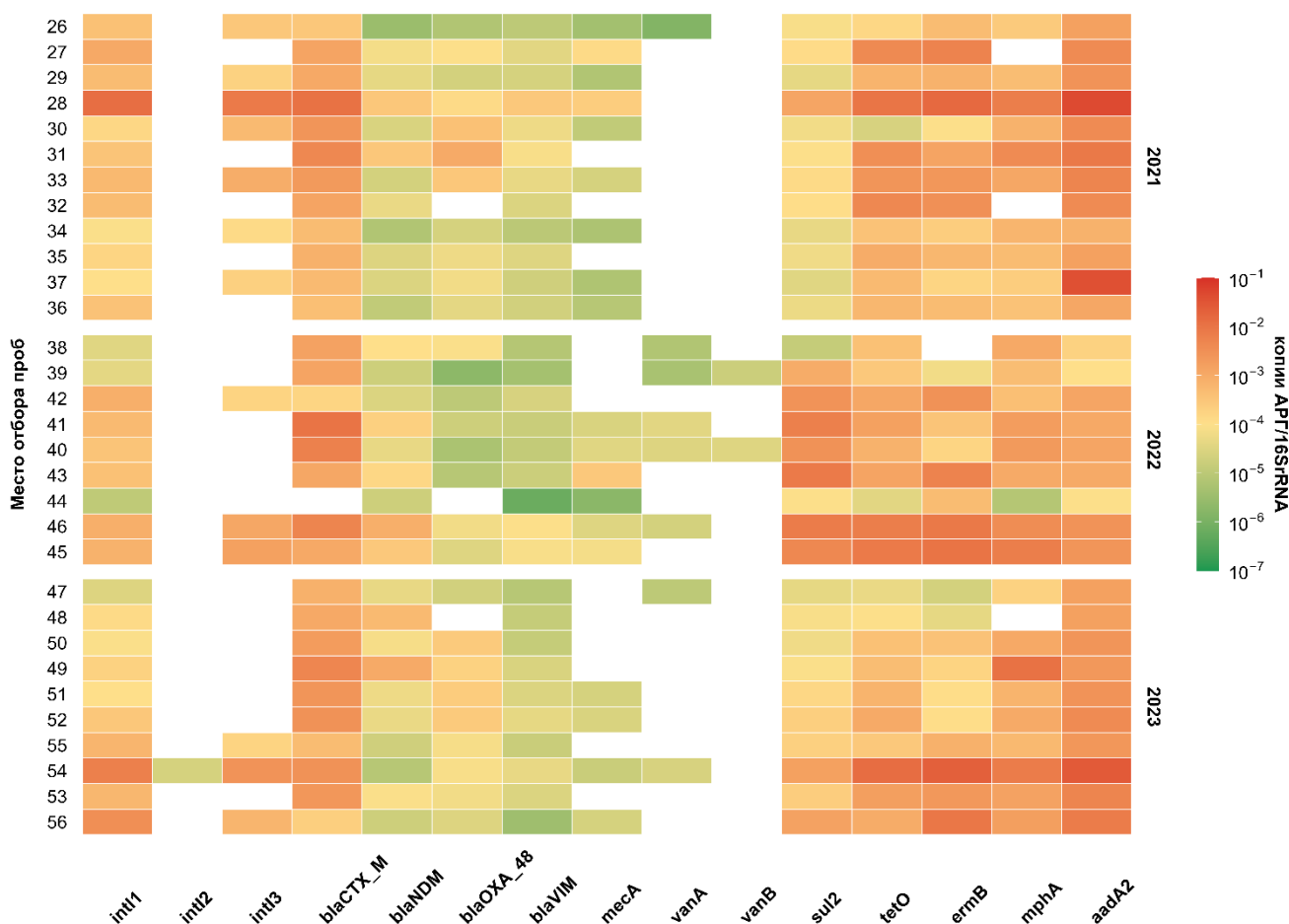


Рисунок 14 – Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK)

Образцы разделены по годам отбора: № 26 – 36 отбирались в 2021 г., 38 – 45 в 2022 г., 47 – 56 в 2023 г. В 100 % проб встречались гены *intI1*, *aadA2*, *tetO*, *sul2*, *blaNDM*, *blaVIM*. Также, с высокой частотой выявлялись гены *blaCTX-M*, *ermB*, *mphA*, *blaOXA-48*, *mecA*, *intI3* (41,9 – 96,8 %). Наименьшую частота выявления характерна для *intI2* (3,2%), *vanB* (6,5%) и *vanA* (25,8%). Наибольшее относительное содержание генов *intI1* ($1,27 \times 10^{-2}$), *intI3* ($7,81 \times 10^{-3}$), *blaCTX-M* ($1,10 \times 10^{-2}$), *blaVIM* ($2,80 \times 10^{-4}$) и *aadA2* ($4,74 \times 10^{-2}$) выявлено

в пробе № 28 (речной вокзал г. Ростов-на-Дону, 22.03.2021). Пробы № 40 и 49 (речной вокзал 25.03.2022 и 27.06.2023) тоже имели максимумы, но для *vanB* ($3,27 \times 10^{-5}$), *bla_{NDM}* ($1,05 \times 10^{-3}$) и *mphA* ($1,10 \times 10^{-2}$). Река Дон в районе устья р. Темерник (№ 41, 54) была вторым сайтом отбора по количеству максимальных показателей относительного содержания для исследуемых АРГ: *intI2* ($2,31 \times 10^{-5}$), *vanA* ($3,76 \times 10^{-5}$), *tetO* ($1,36 \times 10^{-2}$), *ermB* ($2,21 \times 10^{-2}$). Ген устойчивости к метициллину (*mecA* - $2,80 \times 10^{-4}$) и сульфаниламидам (*sul2* - $7,81 \times 10^{-3}$) имели наибольшее содержание в воде водозабора № 43 (17.05.2022). В воде пробы № 31 городского пляжа г. Ростова-на-Дону максимальное значение имела клинически-значимая бета-лактамаза *bla_{OXA-48}* ($1,05 \times 10^{-3}$).

Для того, чтобы выявить, какие потенциальные УПМ, циркулирующие в воде р. Дон и Темерник, являются хозяевами для изучаемых детерминант резистентности, был проведен анализ резистома водных штаммов.

Результаты определения содержания АРГ в геномной ДНК бактерий показало представлены на рисунке 15.

АРГ обнаруживали со следующей частотой: *aadA2>bla_{VIM}>ermB>tetO>sul2>bla_{CTX-M}>vanA>mphA*, *mecA* не был выявлен в данной выборке. Гены *aadA2* и *sul2* встречались во всех образцах, а максимальное содержание выявлено у *intI3* штамма *P. aeruginosa* 63 ($3,14 \times 10^{-2}$), *intI2* встречался в 2 штаммах энтеробактерий (*E. coli* 59, *K. pneumoniae* 61) и имел низкие количественные показатели ($2,46 \times 10^{-8}$ и $1,77 \times 10^{-7}$ соответственно). Гены бета-лактамаз (*bla_{VIM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{NDM}*) имели максимальное содержание у штаммов энтеробактерий – $1,48 \times 10^{-3}$, $1,10 \times 10^{-2}$, $2,87 \times 10^{-1}$ соответственно. Максимум для гена *bla_{OXA-48}*, напротив, выявлен для *P. aeruginosa* ($9,25 \times 10^{-5}$). Наибольшее количество генов выявлено у штамма *E. coli* 59–92,9%; *C. braaki* 55, *K. pneumoniae* 60 и 61, *E. coli* 56, *P. aeruginosa* 62–85,7 %. Наименьшее число исследуемых генов обнаружено у *P. aeruginosa* 52–35,7 %.

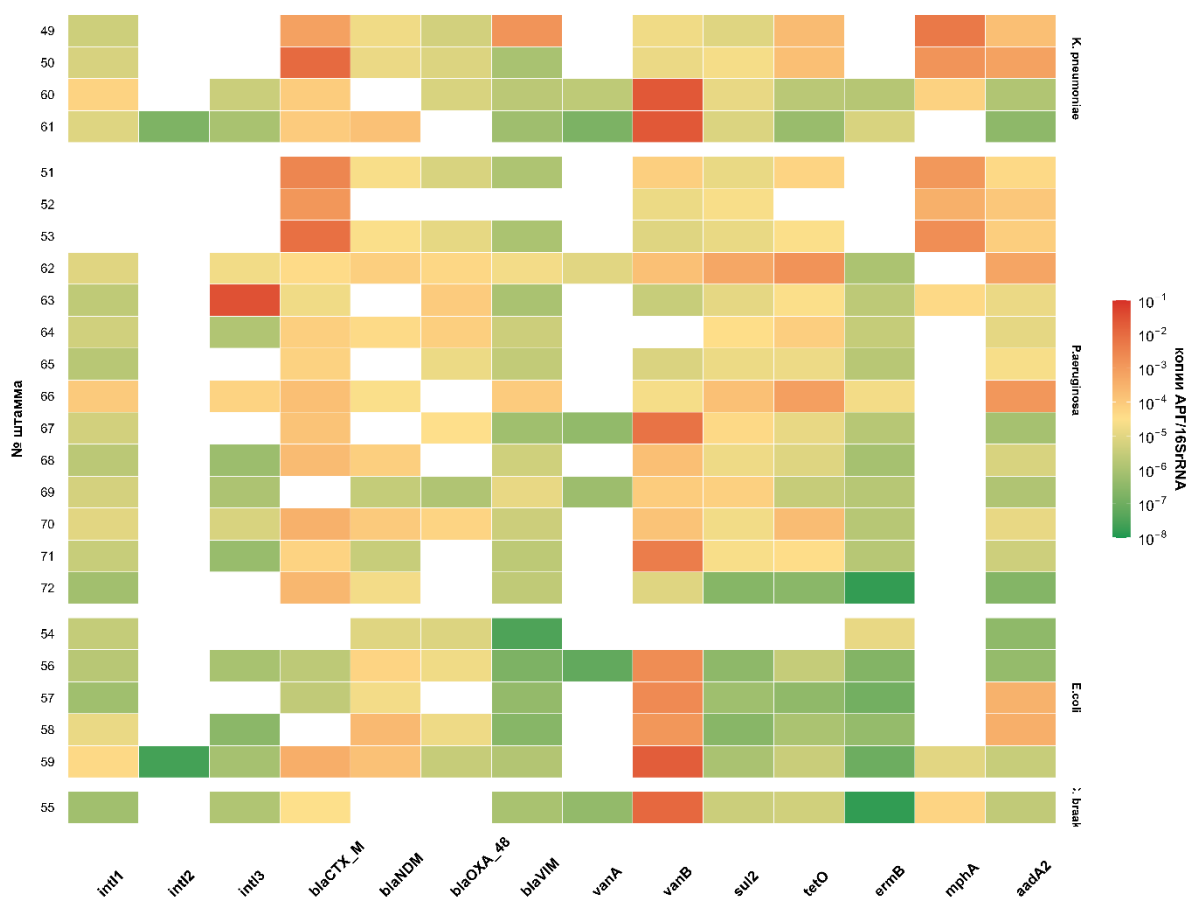


Рисунок 15 – Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK).

Результаты определения содержания АРГ в метагеномной ДНК образцов воды р. Дон в акватории г. Азова представлены на рисунке 16. Частота обнаружения АРГ в пробах *sul2* > *aadA2* > *tetO* > *ermB* > *bla_{CTX-M}* > *mphA* > *bla_{VIM}* > *mecA* > *vanA*.

Ген устойчивости к сульфаниламидам (*sul2*) встречался в 100 % исследуемых проб воды с максимальным относительным содержанием (копий/16SpPHK) $2,24 \times 10^{-3}$ в пробе № 76 места сброса СТБ. Пробы воды р. Дон, отобранные в месте сброса очищенных СТБ и водозабора были наиболее загрязненными АРГ. Пробы № 67, 70, 76, 82 имели наибольшие значения содержания генов: *mecA* ($1,22 \times 10^{-4}$), *intI1* ($4,56 \times 10^{-4}$), *tetO* ($9,11 \times 10^{-4}$), *mphA* ($1,09 \times 10^{-1}$) и *bla_{VIM}* ($3,45 \times 10^{-4}$) соответственно. Пробы азовского водозабора имели наибольшие значения содержания генов: *ermB* –

$9,77 \times 10^{-4}$, $bla_{NDM} - 6,01 \times 10^{-4}$, $bla_{OXA-48} - 5,61 \times 10^{-4}$ (№ 69); $bla_{CTX-M} - 1,18 \times 10^{-2}$ (№ 81); $vanA - 1,4 \times 10^{-5}$ (№ 72).

Статистический анализ различий между акваториями с применением двухстороннего критерия Фишера показал, что АРГ существенно чаще встречались в акватории г. Ростова-на-Дону ($p < 0,01$): bla_{VIM} , bla_{OXA-48} , bla_{NDM} , $mphA$, bla_{CTX-M} , $mecA$. Гены, которые значимо чаще встречались в Ростове ($0,01 \leq p < 0,05$): $intI1$, $vanA$. Гены $sul2$, $aadA2$, $tetO$, $ermB$ формально не показали статистически значимой разницы ($p > 0,05$), что отражает их высокую распространенность в обеих акваториях.

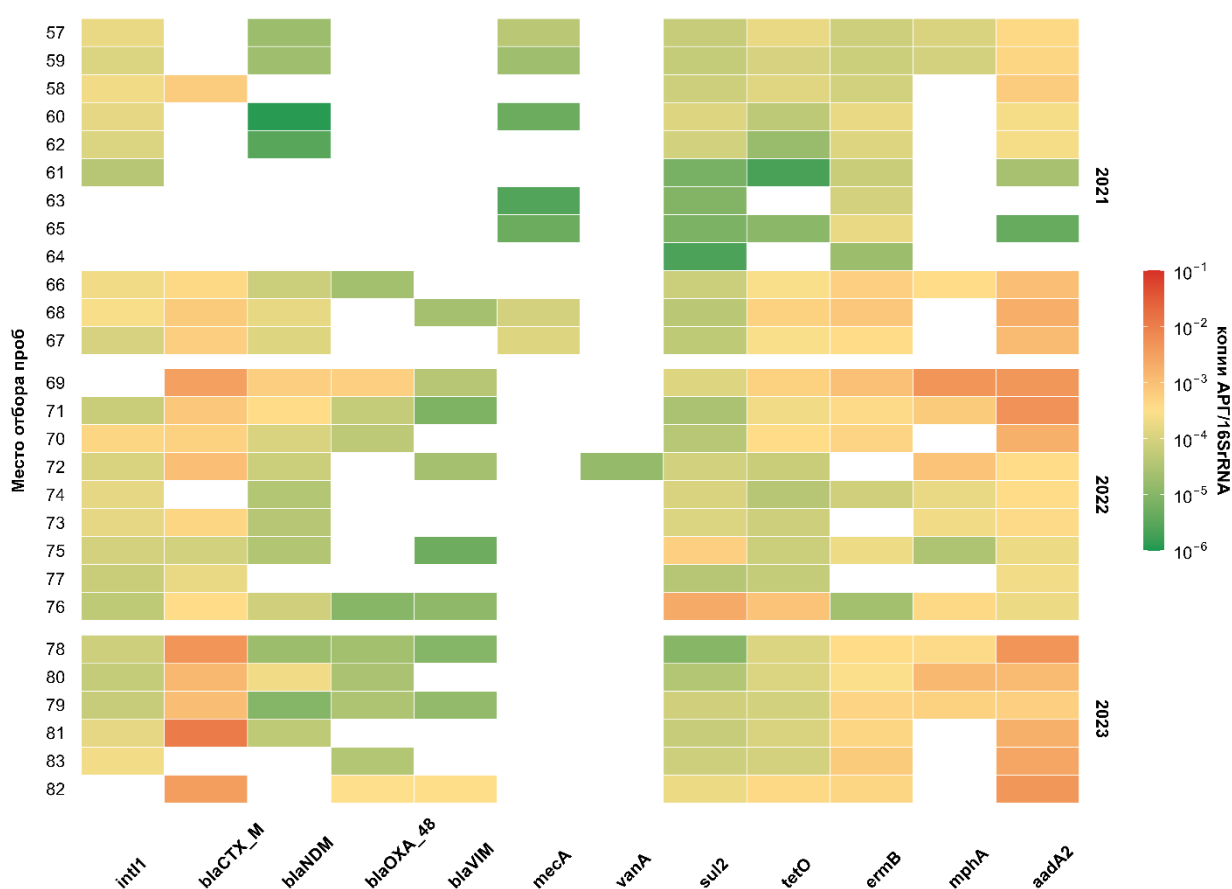


Рисунок 16 – Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон в акватории г. Азова (копий генов/16SpPHK)

Результаты количественного определения содержания интегронов показали, что наиболее часто выявлялись интегроны 1 и 3 классов (*intI1*, *intI3*), а *intI2* реже и с наименьшим относительным содержанием. Интегроны 1 класса обнаружили в 100% исследуемых штаммов бактерий. В ДНК бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон в акватории г. Азова (Рисунок 17) АРГ

обнаруживали со следующей частотой: *aadA2*>*bla_{VIM}*>*tetO*>*ermB*>*bla_{CTX-M}*>*vanA*>*sul2*>*mphA*>*mecA*.

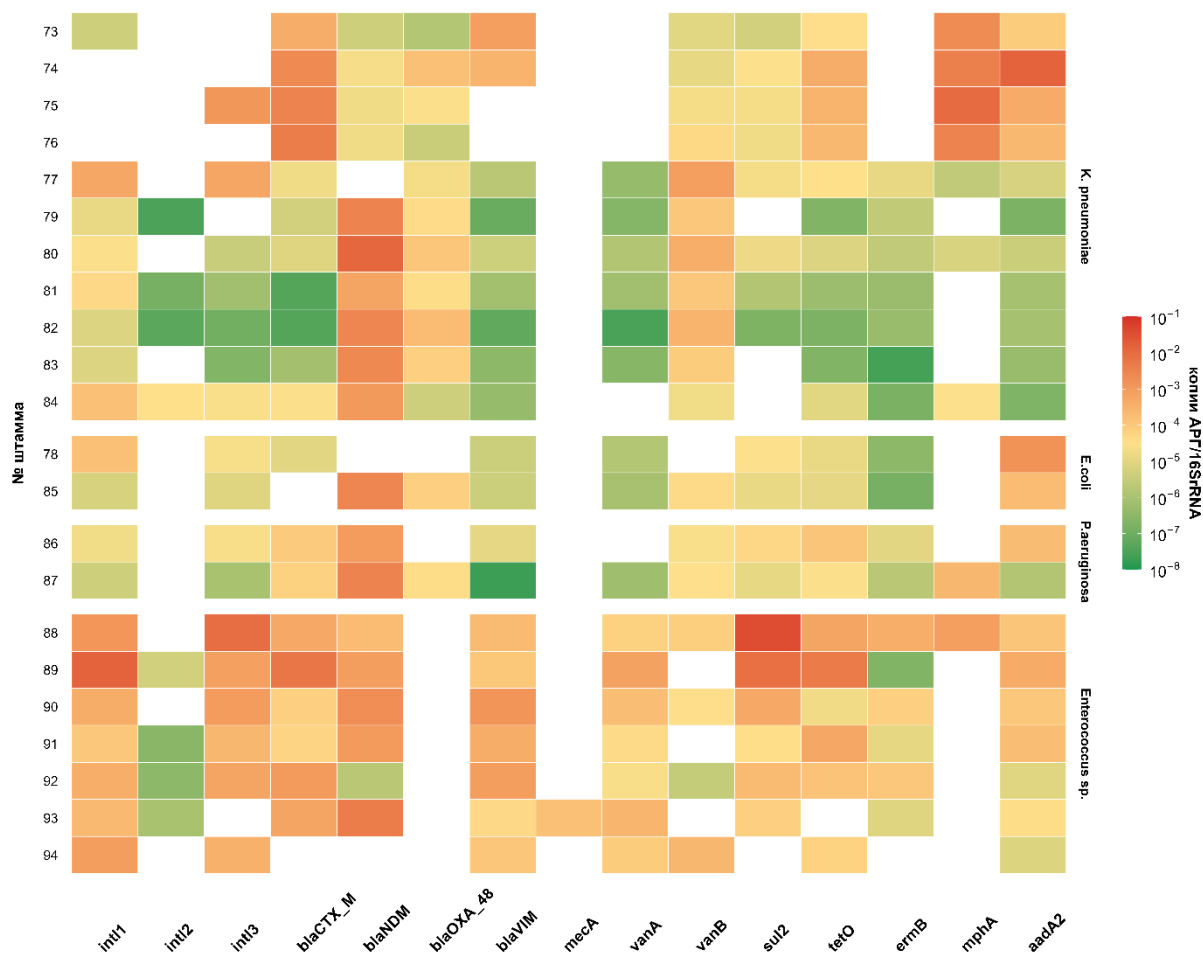


Рисунок 17 – Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон в акватории г. Азова (копий генов/16SpPHK)

АРГ у бактериальных изолятов из акватории Азова выявляли с очень высокой частотой. Все штаммы (100%) содержали *aadA2*, *sul2* и *tetO*, гены *bla_{CTX-M}* обнаружены у 95,5% штаммов, *bla_{VIM}* – 90,9%, *bla_{NDM}* и *intI1* – 86,4%. Максимальное относительное содержание *aadA2* составило $1,56 \times 10^{-2}$ у штамма *K. pneumoniae* 74. Гены ванкомициновой резистентности встречались у большинства штаммов: *vanB* выявляли у 81,8%, *vanA* – 72,7% изолятов, тогда как *mecA* зарегистрировали лишь у одного штамма *Enterococcus sp.* (4,5%). Максимальные уровни *sul2* ($3,93 \times 10^{-2}$), *tetO* ($5,05 \times 10^{-3}$), *bla_{CTX-M}* ($6,35 \times 10^{-3}$), *bla_{VIM}* ($1,42 \times 10^{-3}$), *intI1* ($1,57 \times 10^{-2}$), *intI3* ($9,01 \times 10^{-3}$), *ermB* ($4,11 \times 10^{-4}$) и *vanA* ($7,24 \times 10^{-4}$) отмечались у штаммов *Enterococcus sp.* 88–89, тогда как

наибольшие значения bla_{NDM} ($1,27 \times 10^{-2}$), bla_{OXA-48} ($1,98 \times 10^{-4}$) и $mphA$ ($1,03 \times 10^{-2}$) приходятся на *K. pneumoniae* 75, 80, 82. Наибольшее количество исследуемых генов (13 из 15, 86,7%) выявлено у штаммов *K. pneumoniae* 80, 81, 82, 84 и *P. aeruginosa* 87; 12 генов (80,0%) несли *K. pneumoniae* 77 и 83, *E. coli* 85, а также *Enterococcus* sp. 88 и 92, тогда как минимальное число генов (8 из 15, 53,3%) обнаружено у *K. pneumoniae* 76 и *Enterococcus* sp. 94.

Ген устойчивости к метициллину (*mecA*) выявлен только у одного штамма энтерококка с низким относительным содержанием $1,61 \times 10^{-4}$ копий/16SpРНК. Этот результат свидетельствует о том, что метициллин-резистентность не является характерной для исследуемых водных популяций энтерококков, что соответствует ожиданиям, поскольку *mecA* ассоциирован преимущественно с клиническими штаммами *Staphylococcus aureus* (Leonard, Markey, 2008).

Энтерококки также представляют особый интерес как санитарно-показательные микроорганизмы благодаря их устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды и способности сохраняться в водных экосистемах дольше, чем *E. coli* (Samy et al., 2021). Распространение ванкомицин-резистентных энтерококков (VRE) в окружающей среде вызывает беспокойство, поскольку ванкомицин служит резервным препаратом при лечении энтерококковых инфекций, устойчивых к другим классам антибиотиков. Штаммы VRE регулярно выявляются на различных этапах очистки сточных вод, включая водоемы мест сброса. Резистентность VRE-штаммов как правило обусловлена наличием таких генов устойчивости к ванкомицину/тейкопланину, как *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/C3*, которые могут быть как хромосомными, так и плазмид-опосредованными (Moosavian и др., 2018; Mirzaie et al., 2023).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повсеместном распространении исследуемых АРГ в пробах воды р. Дон и р. Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону и Азов. Во всех исследуемых образцах воды обнаружены все изученные АРГ. Наиболее часто у исследуемых штаммов в

акватории городов Ростов-на-Дону и Азов встречались гены *bla_{VIM}*, *bla_{CTX-M}*, *aadA2* и интегроны *intI1*, *intI3*, с меньшей частотой – *intI2* и *mecA*.

Штаммы с наименьшим распространением АРГ были выделены из проб воды, отобранных в зонах рекреации обоих исследуемых городов. Максимальный спектр генов устойчивости к антибиотикам среди исследуемых образцов воды рек в районе речного вокзала, водозабора и ниже устья р. Темерник акватории г. Ростова-на-Дону. Среди штаммов этих проб - *E. coli* имела наибольшую частоту встречаемости детерминант устойчивости и интегров. В пробах воды водозабора и участка ниже сброса СТВ акватории г. Азова обнаружены широкий спектр и максимальные значения относительного содержания АРГ. Штаммы *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* определены как бактерии-хозяева максимального спектра АРГ в г. Азове. Несмотря на то, что АРГ в метагеномной ДНК проб реже обнаруживались в образцах городского пляжа, наибольшая нагрузка по АРГ среди штаммов энтерококков выявлена у *Enterococcus sp.*, выделенного на пляже г. Азова.

При сравнении полученных результатов содержания АРГ водных штаммов и выделенных из проб почвы г. Ростов-на-Дону можно отметить аналогичную спорадическую встречаемость и низкое содержание гена *mecA*. Гены устойчивости к аминогликозидам (*aadA2*), сульфаниламидам (*sul2*) и тетрациклинам (*tetO*) также имели наиболее высокую копийность. В то же время, гены устойчивости *mphA* и *vanB*, имели большую частоту выявления в почвах, нежели в штаммах бактерий, выделенных из воды. Это может связано с анализом непосредственно метагеномной ДНК образцов, а не геномной ДНК микроорганизмов (Ажогина, Сазыкина, 2022).

В сравнении с данными содержания АРГ в донных отложениях озера Маныч-Гудило, так же отмечается широкое распространение генов *bla_{VIM}*, *bla_{CTX-M}*, *aadA2*. Такое совпадение профилей АРГ в различных типах образцов (вода, почва, донные отложения) свидетельствует о единообразии локального резистома и возможности их обмена между микробными сообществами различных сред (Ажогина и др., 2024).

4.6 Определение экотоксикологических эффектов проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова

Результаты определения генотоксичности и прооксидантных параметров проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону представлены на рисунке 18.

Сравнение факторов индукции при определении генотоксического эффекта с помощью биосенсора *E. Coli* MG1655 (pRecA-lux) (ДНК-повреждение) показало, что индукция люминесценции в подавляющем большинстве проб оставалась на уровне слабой токсичности ($I < 2,0$). Значение фактора индукции, соответствующее умеренной токсичности ($2,0 \leq I \leq 10,0$), зафиксировано лишь в одной пробе - № 41 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 25.03.2022; $I = 2,01$). Показатели высокой генотоксичности ($I > 10,0$) не зафиксированы ни для одной из проб.

Определение генотоксичности с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux) (наличие алкилирующих агентов) дало сходные результаты. В большинстве образцов фактор индукции оставался ниже порогового значения, а показатели, соответствующие умеренной токсичности, были выявлены только в пробах № 31 (городской пляж, 12.05.2021; $I = 2,03$) и № 54 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 10.10.2023; $I = 2,17$). Это свидетельствует об эпизодическом локальном присутствии алкилирующих генотоксикантов в этих сайтах отбора.

Для оценки окислительного стресса применялись биосенсоры *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) (пероксидный стресс) и *E. coli* MG1655 (pSoxS-lux) (супероксидный стресс). Во всех проанализированных пробах значения факторов индукции по обоим биосенсорам не превышали 2,0, что говорит о слабой токсичности.

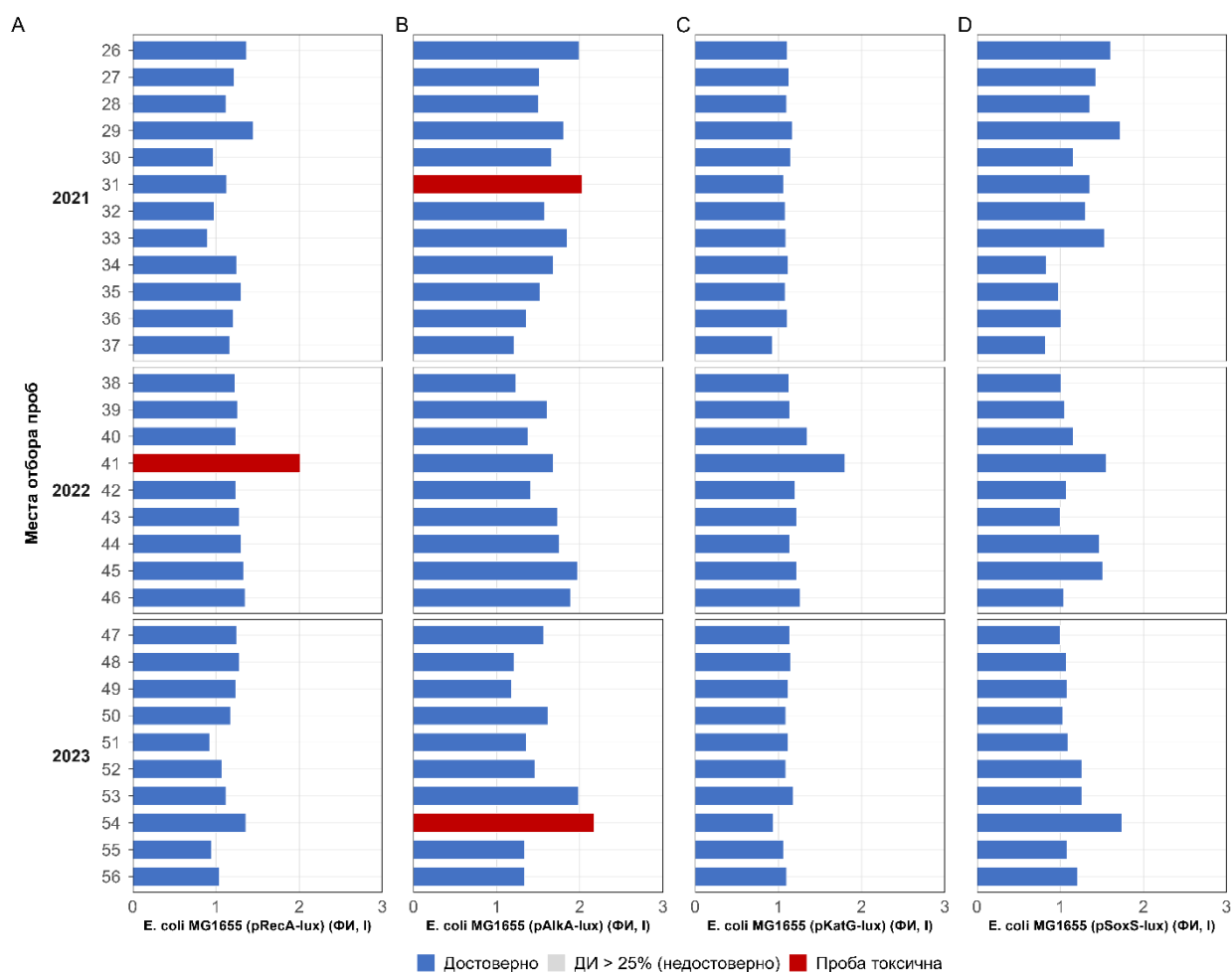


Рисунок 18 – Генотоксичность и прооксидантные свойства исследуемых проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону.

Высокотоксичных проб ($T \geq 50$) по показателю интегральной токсичности, определяемому с помощью *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245, выявлено не было. В пробе № 41 (устье р. Темерник, 25.03.2022; $T = 22,10$) зарегистрирован уровень токсичности, соответствующий диапазону $T < 20$ (Рисунок 19). Причем, в этой же пробе были выявлены генотоксические эффекты с помощью биосенсора *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), связанные с наличием ДНК-повреждающих веществ.

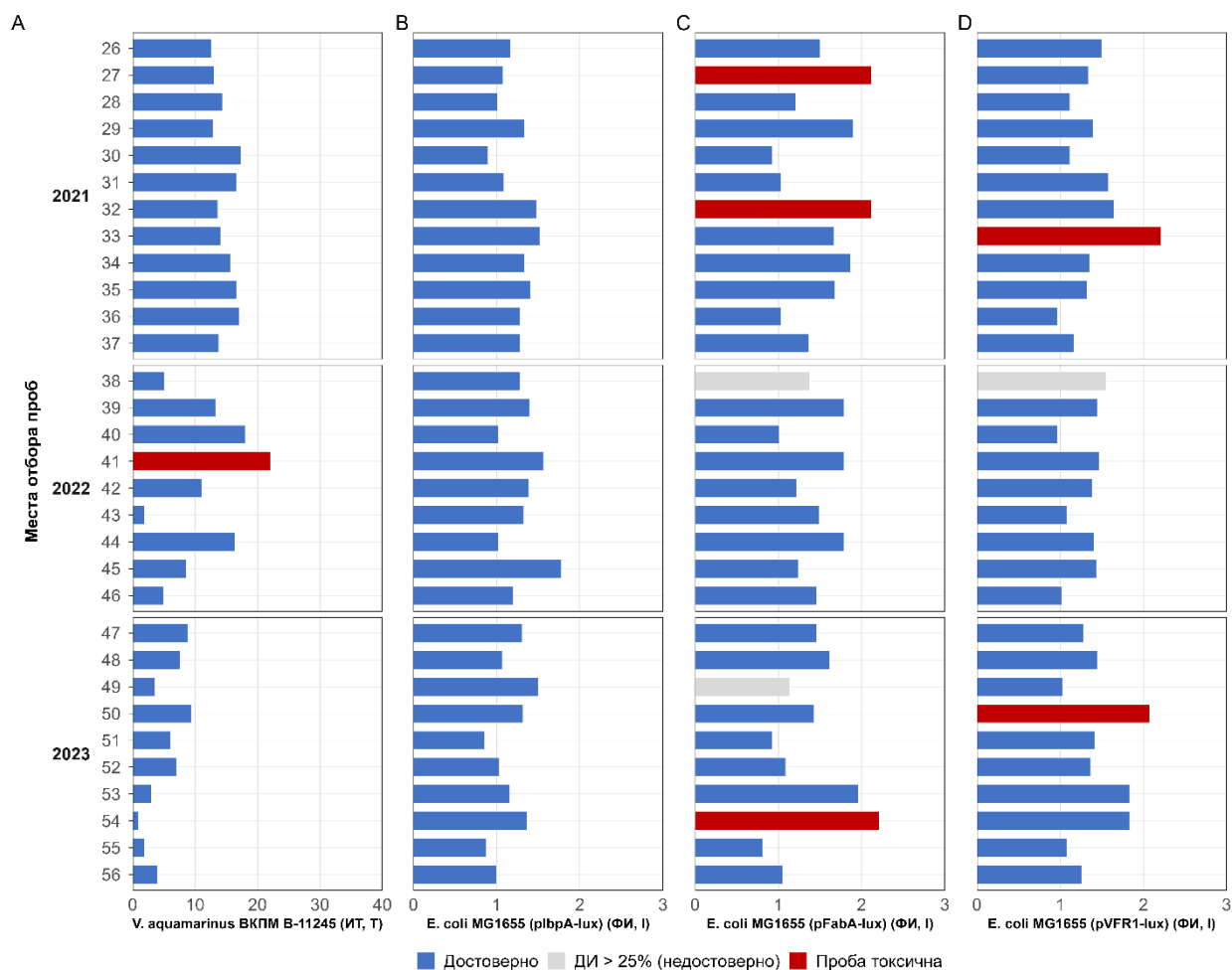


Рисунок 19 – Интегральная токсичность и индукция системы *Quorum sensing*, токсичность, ассоциированная с повреждением белков и мембран, в исследуемых пробах воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону

Реакция биосенсора *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux), регистрирующего повреждение белков, также характеризовалась низкими значениями фактора индукции. Во всех пробах значение фактора индукции не достигало 2,0. Максимальный ответ биосенсора ($I = 1,78$) наблюдался в пробе № 45 (речной вокзал, 17.05.2022), что указывает на отсутствие токсикантов, ассоциированных с повреждением белков на исследованных участках р. Дон и Темерник.

Биосенсор *E. coli* MG1655 (pFabA-lux), показал более выраженную реакцию. Значения I в диапазоне умеренной токсичности зафиксированы в трех образцах: № 27 (городской пляж, 22.03.2021; $I = 2,12$), № 32 (речной

вокзал, 12.05.2021; $I = 2,12$) и № 54 (р. Дон в районе устья р. Темерник, 10.10.2023; $I = 2,21$). Это указывает на наличие токсикантов, связанных с нарушением целостности мембран в речной воде, преимущественно в зонах рекреации и в районе устья Темерника.

При использовании биосенсора *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux), значение фактора индукции $I \geq 2,0$ отмечено в двух образцах р. Дон в районе устья р. Темерник: № 33 (12.05.2021; $I = 2,21$) и № 50 (27.06.2023; $I = 2,08$). Таким образом, именно в этом сайте периодически регистрировалась активация сигнальных путей, ассоциированных с аутоиндукторами *Quorum sensing*.

Исследования экотоксикологических параметров также проводились для проб воды р. Дон в акватории г. Азова (Рисунки 20 и 21).

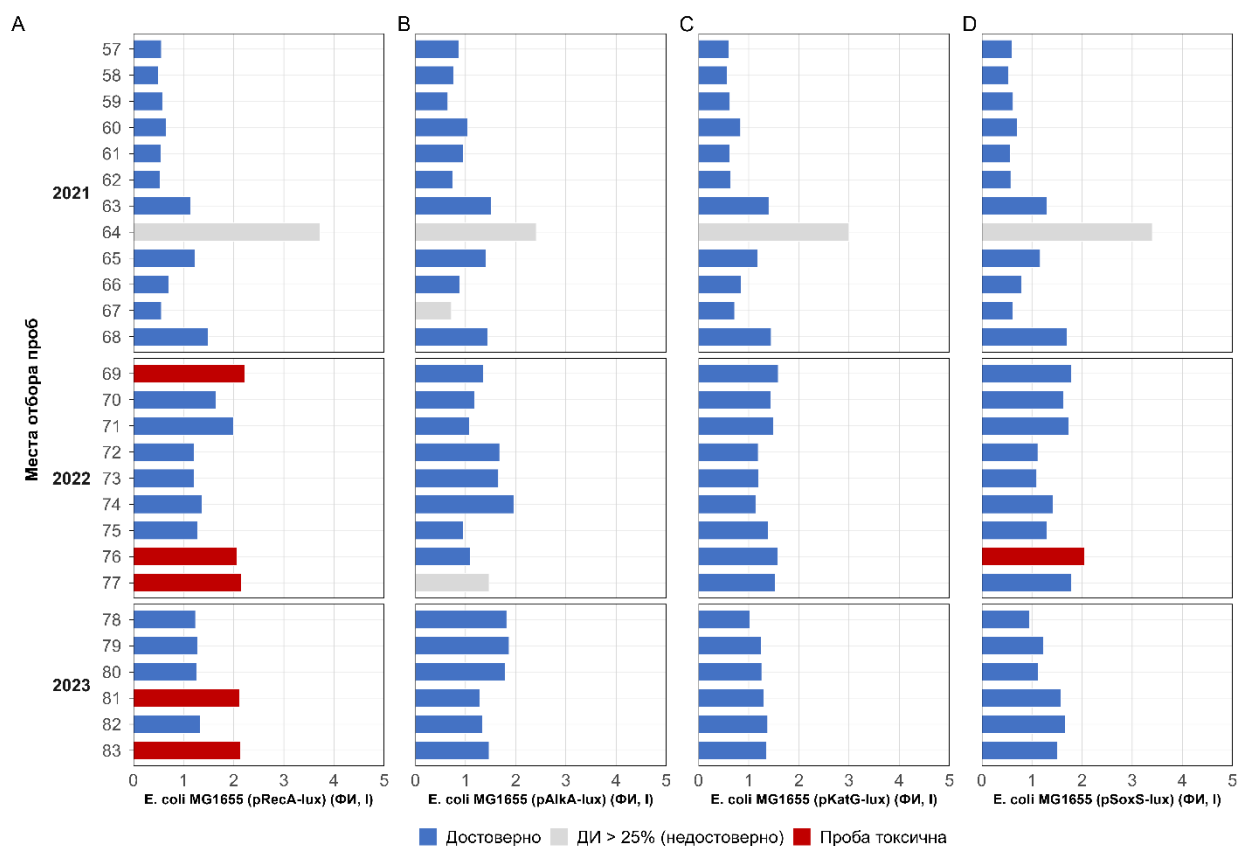


Рисунок 20 – Генотоксичность и прооксидантные свойства исследуемых проб воды реки Дон в акватории г. Азова.

Определение генотоксичности (Рисунок 20А) показало, что для большинства проб акватории г. Азова значения I соответствовали слабой токсичности. Умеренный генотоксический эффект зарегистрирован в 5

пробах: № 69 (водозабор, 29.03.2022; $I = 2,22$), № 76 (место сброса СТБ, 13.09.2022; $I = 2,07$), № 77 (место рекреации, 13.09.2022; $I = 2,15$), № 81 (водозабор, 4.07.2023; $I = 2,12$) и № 83 (место рекреации, 4.07.2023; $I = 2,14$), что свидетельствовало о регулярном присутствии ДНК-повреждающих соединений как в зоне сброса СТБ, так и в прибрежной рекреационной зоне. В пробе № 64 (место сброса СТБ, 5.10.2021; $I = 3,72 \pm 1,44$) результаты не достоверны. Также, в пробе № 76 отмечена токсичность, ассоциированная с супероксидным стрессом.

Для биосенсоров *E. coli* MG1655 (pAlkA-lux), *E. coli* MG1655 (pKatG-lux) и *E. coli* MG1655 (pIbpA-lux) (рисунок 21А) значения факторов индукции, как правило, не превышали 2,0, а недостоверные данные по умеренной токсичности получены лишь для отдельных проб.

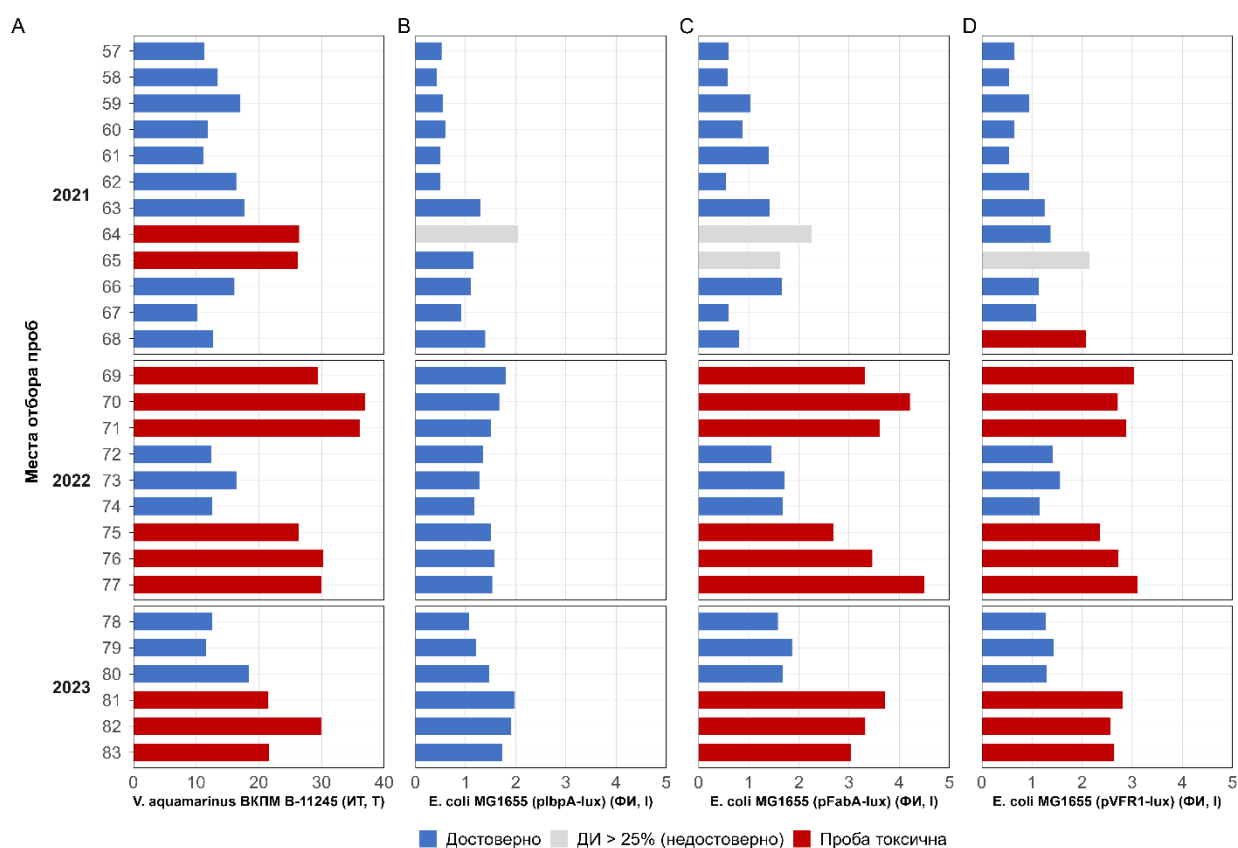


Рисунок 21 - Интегральная токсичность и индукция системы *Quorum sensing*, токсичность, ассоциированная с повреждением белков и мембран, в исследуемых пробах воды реки Дон в акватории г. Азова

Высокотоксичные пробы по показателю интегральной токсичности в акватории Азова не выявлены. К токсичным пробам относились: № 64 и 65 (5.10.2021; $T = 26,49; 26,27$), № 69–71 (29.03.2022; $T = 29,51; 36,96; 36,19$), № 75–77 (13.09.2022; $T = 26,38; 30,27; 30,00$) и № 81–83 (4.07.2023; $T = 21,60; 29,99; 21,73$). Причем, интегральную токсичность выявляли в конкретные даты отбора проб вне зависимости от точки отбора.

Пробы № 70, 71, 75–77, 81–83 определены как токсичные по биосенсору *E. coli* MG1655 (pFabA-lux). Также, в этих пробах регистрировались значения фактора индукции $I > 2,0$ для биосенсора *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux). Максимальное значение фактора индукции наблюдалось в образце № 77 ($I = 4,51$; место рекреации; 13.09.2022). Результаты указывают на существенную нагрузку на р. Дон в акватории г. Азова веществами, вызывающими повреждения мембран и ДНК, индукторами кворум-сенсинга I типа.

Сравнение интегральной токсичности проб из двух акваторий показало статистически значимое превышение токсичности в Азове по сравнению с Ростовом-на-Дону ($p = 0,0006$). Также, достоверные различия ($p < 0,05$) между акваториями выявлены по трем биосенсорам: *E. coli* MG1655 (pRecA-lux), *E. coli* MG1655 (pFabA-lux) и *E. coli* MG1655 (pVFR1-lux); во всех случаях токсичность и наличие индукторов *Quorum sensing* значимо выше в пробах из г. Азова. По остальным биосенсорам различия недостоверны, так как число токсичных проб мало в обеих группах.

4.7 Взаимосвязь между содержанием АРГ и интегронов в микробиомах проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова

Определение роли ГПГ в интегрон-опосредованном распространении АРГ определялся с помощью корреляции Спирмена между содержанием АРГ и генов интеграз. Статистически-значимые корреляции выявлялись в геномной ДНК бактерий, выделенных из проб р. Дон в акватории г. Азова метагеномной ДНК проб воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (рисунок 22).

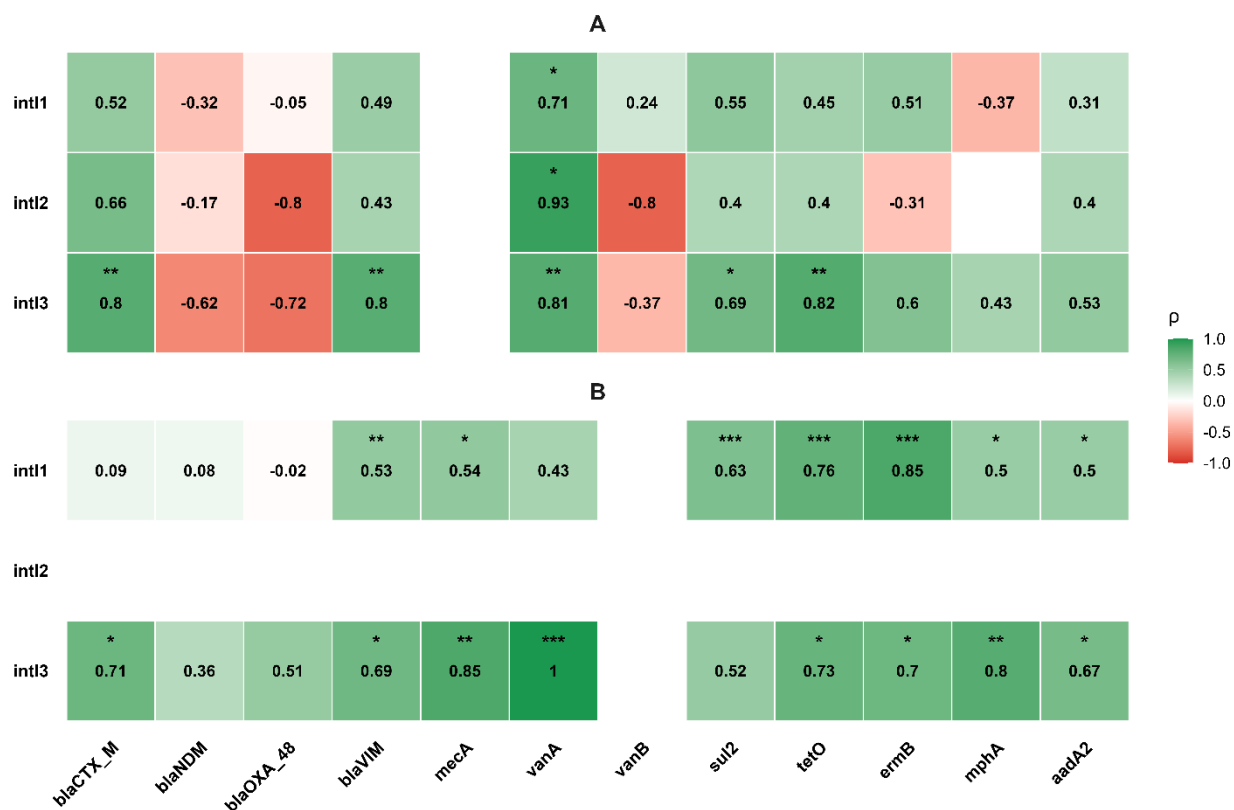


Рисунок 22 – Взаимосвязь между содержанием АРГ и интегров в геномной ДНК бактерий, выделенных из проб р. Дон в акватории г. Азова (А); метагеномной ДНК проб воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (В).

В штаммах УПМ выявлены положительные корреляции между геном устойчивости к тетрациклинам (*tetO*), сульфонидами (*sul2*), ванкомицину (*vanA*) генами бета-лактамаз (*bla_{VIM}*, *bla_{CTX-M}*) и интегроном 3 типа. Ген устойчивости *vanA*, имел положительные статистически-значимые корреляции с интегронами всех трех классов. Сильные отрицательные корреляции между *intI2* и *bla_{OXA-48}*/ *vanB*, *intI3* и *bla_{OXA-48}* тоже выявлялись, но не достигали статистической значимости. В публикациях отмечено, что интегроны 1 класса клинических карбапенем-резистентных штаммов *P. aeruginosa* несли кассеты с геном металло-бета-лактамазы *bla_{VIM-1}*/ *bla_{VIM-4}* совместно с генами *bla_{OXA}* и *aadA1*, *aadA6*, причем был доказан факт ГПГ между разными клиническими изолятами (Libisch et al., 2004; Yatsuyanagi et al., 2004).

Положительная сильная взаимосвязь в метагеномной ДНК проб воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону определена для *intI1* и *tetO/ermB*, *intI3* и *mecA/vanA/mphA/bla_{CTX-M}*. Ген *bla_{VIM}* был ассоциирован с интегронами 1 и 3 классов. Интегроны 1 класса наиболее распространены в клинических изолятах и содержат кассеты, кодирующие резистентность к аминогликозидам, сульфаниламидам и бета-лактамам. Ген *sul2*, кодирующий резистентность к сульфаниламидам, часто обнаруживается в составе кассет интегронов 1 типа вместе с *aadA* генами, что создает кластеры множественной устойчивости (Bhat et al., 2023; Qiu et al., 2024). Отрицательных значимых корреляций выявлено не было.

Полученные результаты подчеркивают, что водные штаммы условно-патогенных бактерий являются бактериями-хозяевами для АРГ и МГЭ, которые участвуют в распространении АРГ в бактериальной популяции. В связи с этим, необходимо проводить не только санитарно-микробиологический мониторинг, но также повсеместно включать определение устойчивости бактерий к антибиотикам не только фенотипическими методами, но и генотипическими.

ГЛАВА 5 ВЫВОДЫ

1. Состав микробиома сточных вод в значительной степени определялся сезонностью. Доминирующими типами определены Pseudomonadota, Bacillota I, Actinomycetota, Bacillota_A_368345, Bacteroidota, Planctomycetota, Verrucomicrobiota, Patescibacteria. Также в структуру микробиома рек в местах сброса сточных вод значительный вклад вносил тип Cyanobacteriota. Установлено, что тип Pseudomonadota доминировал в большинстве исследуемых проб. Тем не менее, в осенний период (октябрь, ноябрь) в отдельных образцах доминировали Bacillota и Actinomycetota. Такие параметры, как этап очистки и географическое положение очистных сооружений, не показали статистическую значимость с показателями альфа- и бета-разнообразия.

2. Все исследуемые 12 типов АРГ (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48}, *vanA*, *vanB*, *mecA*, *tetO*, *sul2*, *aadA2*, *ermB*, *mphA*) и 3 гена интеграз (*intI1*, *intI2*, *intI3*) обнаруживались в 7 пробах неочищенных сточных вод на входе в очистные сооружения, в 4 образцах очищенных сточных вод и в 2 пробах активного ила. Наибольшее количество типов АРГ обнаруживалось в культурах бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (*C. freundii*, *E. coli*, *S. enterica*). Выявление клинически-значимых АРГ подчеркивает роль сточных вод как резервуара и источника распространения антибиотикорезистентности в микробиомах природных водных экосистем.

3. По результатам биотестирования с использованием цельноклеточных бактериальных lux-биосенсоров установлено, что среди исследованных проб воды наиболее токсичными оказались неочищенные сточные воды КОС г. Аксая, Сальска и Таганрога, а также пробы активного ила КОС г. Новошахтинска. Генотоксические эффекты исследованных проб воды были обусловлены присутствием алкилирующих агентов, а прооксидантные свойства – супероксидным стрессом.

4. Установлены статистически значимые корреляции между генами интеграз и отдельными генами резистентности как в бактериальных

культурах, так и в тотальной ДНК проб воды: положительные - между *intI1* и генами *aadA2*, *sul2*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{VIM}*, *mecA*, *tetO*; между *intI2* и *aadA2*, *sul2*, *mecA*; между *intI3* и *aadA2*, *bla_{VIM}*, *sul2*, *tetO*. Выявленные значимые положительные корреляции указывают на активный процесс горизонтального переноса клинически-значимых детерминант резистентности в исследуемых микробиомах.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АБП – антибактериальные препараты

АИ – активный ил

АРБ – антибиотикорезистентные бактерии

АРГ – гены резистентности к антибиотикам

(антибиотикорезистентности)

БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра

ВАК – Высшая аттестационная комиссия

ГПГ – горизонтальный перенос генов

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ДГТУ – Донской государственный технический университет

КОС – канализационные очистные сооружения

МГЭ – мобильные генетические элементы

ПАВ – поверхностно-активные вещества

ПДК – предельно допустимая концентрация

ПДС – предельно допустимый сброс

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РИНЦ – Российский индекс научного цитирования

РостГМУ – Ростовский государственный медицинский университет

рРНК – рибосомальная рибонуклеиновая кислота

СТВ – сточные воды

УПМ – условно-патогенные микроорганизмы

ЮФУ – Южный федеральный университет

CDC – Centers for Disease Control and Prevention

MALDI-TOF – Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (масс-спектрометрия)

MaAsLin2 – Multivariable Association Discovery in Population-scale Meta-omics Studies

QIIME2 – Quantitative Insights Into Microbial Ecology

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ажогина, Т. Н. Влияние поллютантов на распространение генов устойчивости к антибиотикам в окружающей среде / Т. Н. Ажогина, С. Г. Скугорева, А. А. К. Аль-Раммахи [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 3. – С. 6–14. – DOI: 10.25750/1995-4301-2020-3-006-014.
2. Ажогина, Т. Н. Гены антибиотикорезистентности и бактериоценоз донных отложений озера Маныч-Гудило / Т. Н. Ажогина, Д. С. Воропина, Л. Е. Хмелевцова [и др.] // Живые и биокосные системы. – 2024. – № 50. – URL: <https://jbks.ru/archive/issue-50/article-1> (дата обращения: 02.12.2025).
3. Ажогина, Т. Н. Оценка содержания генов антибиотикорезистентности в почвах г. Ростова-на-Дону / Т. Н. Ажогина, М. А. Сазыкина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 7–2 (121). – С. 84–86.
4. Ашихмина, Т. Я. Изучение процессов эвтрофикации природных и искусственно созданных водоёмов (литературный обзор) / Т. Я. Ашихмина, Т. И. Кутявина, Е. А. Домнина // Теоретическая и прикладная экология. – 2014. – № 3. – С. 6–13.
5. Бойченко, Т. В. Опыт применения методов микробной индикации в оценке качества среды хронически загрязнённых морских акваторий / Т. В. Бойченко // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова. – 2019. – № 2 (70). – С. 5–13.
6. Водный кодекс Российской Федерации от 03.06.2006 № 74-ФЗ. – Москва, 2006.
7. ГОСТ Р 32537–2013. Удобрения. Методы определения мышьяка, кадмия, кобальта, хрома, меди, ртути, марганца, никеля, свинца, цинка. – Москва : Стандартинформ, 2014.
8. ГОСТ Р 56828.35–2018. Наилучшие доступные технологии. Очистка сточных вод с использованием централизованных систем водоотведения поселений, городских округов. – Москва : Стандартинформ, 2018.

9. ГОСТ Р 59053–2020. Качество воды. Определение токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg. – Москва : Стандартинформ, 2020.

10. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. ОФС.1.7.2.0039.18 Метод электрофореза ДНК в агарозном геле [Электронный ресурс]. Офиц. сайт ГФ РФ. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-14/1/1-7/1-7-2/metod-elektroforeza-dnk-v-agaroznom-gele/> (дата обращения: 06.05.2026).

11. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2024 году». – Москва : Минприроды России, 2025.

12. Джумагулова, Н. Т. Изучение видового состава микроорганизмов, осуществляющих очистку сточных вод / Н. Т. Джумагулова, И. Е. Гаврилов, Д. Д. Нгуен // Известия Томского политехнического университета. Инжиниринг георесурсов. – 2019. – Т. 330, № 9. – С. 195–203.

13. Елифанов, В. Д. Микробиология сточных вод / В. Д. Елифанов, А. В. Елифанов, Е. П. Евсеев [и др.] // Альтернативная энергетика и экология. – 2014. – № 18 (158). – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiologiya-stochnyh-vod> (дата обращения: 12.04.2026).

14. Загайнова, А. В. Барьерная роль очистных сооружений в обеззараживании сточных вод в отношении *E. coli*, обобщённых и общих колиформных бактерий / А. В. Загайнова, П. В. Журавлев, М. А. Морозова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2022. – Т. 101, № 5. – С. 479–486. – DOI: 10.47470/0016-9900-2022-101-5-479-486.

15. Красильникова, Е. В. Микробиологический анализ активного ила очистных сооружений Монди СЛПК / Е. В. Красильникова, Н. Н. Шергина // Биологические и географические аспекты экологии человека : сборник научных трудов. – 2018. – С. 59–64.

16. Лаврский, А. Ю. Динамика биолюминесценции рекомбинантного штамма *Escherichia coli* «Эколюм 8» при различных условиях культивирования / А. Ю. Лаврский, М. Д. Пронина // Вестник Пермского государственного гуманитарно-педагогического университета. Серия № 2. Физико-математические и естественные науки. – 2023. – № 1. – С. 53–60.
17. Максимова, Ю. Г. Бактериальные сообщества активного ила очистных сооружений г. Перми / Ю. Г. Максимова, Е. Ю. Бурлуцкая, А. Ю. Максимов // Вода и экология. – 2019. – Т. 1 (77). – С. 64–74. – DOI: 10.23968/2305-3488.2019.24.1.64-74.
18. Миронов, В. В. Динамика биологических процессов при компостировании анаэробно обработанного осадка сточных вод / В. В. Миронов, Е. А. Бочкова, А. В. Ганнесен [и др.] // Микробиология. – 2020. – Т. 89, № 4. – С. 474–487.
19. МР 01.019-07. Определение интегральной токсичности почв с помощью биотеста «Эколюм». – Москва : ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 2007.
20. МР 01.020-07. Определение токсичности воздушной среды с помощью биотеста «Эколюм». – Москва : Роспотребнадзор, 2007.
21. МР 01.021-07. Методика экспрессного определения токсичности воды с помощью люминесцентного бактериального теста «Эколюм». – Москва : МЗ РФ, 2000. – 19 с.
22. МУК 4.2.1884 – 04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов».
23. Ножевникова, А. Н. Состав микробного сообщества на разных стадиях компостирования, перспектива получения компоста из муниципальных органических отходов (обзор) / А. Н. Ножевникова, В. В. Миронов, Е. А. Бочкова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55, № 3. – С. 211–221.
24. Патент RU 2696052 С1. С12N 15/10. Способ выделения ДНК из почвы / М. А. Сазыкина, И. С. Сазыкин, Е. Ю. Селиверстова, Л. Е. Хмелевцова;

заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». – № 2018140149; заявл. 13.11.2018; опубл. 30.07.2019. – Бюл. № 22. – 13 с.

25. Постановление Правительства Российской Федерации от 22.05.2020 № 728 «Об утверждении Правил осуществления контроля состава и свойств сточных вод и о внесении изменений и признании утратившими силу некоторых актов Правительства Российской Федерации».

26. Сазыкин, И. С. Роль очистных сооружений сточных вод в распространении генов резистентности к антибиотикам / И. С. Сазыкин, Т. Н. Ажогина, Л. Е. Хмелевцова [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. – 2020. – № 4. – С. 223–230. – DOI: 10.25750/1995-4301-2020-4-223-230.

27. Сазыкин, И. С. Штамм *Vibrio aquamarinus*, способ определения токсичности проб с его помощью и тест-культура для определения токсичности проб : патент 2534819 Рос. Федерация / И. С. Сазыкин, М. А. Сазыкина, Е. М. Кудеевская, М. И. Сазыкина. – 2014.

28. Сазыкина, М. А. Биосенсорный анализ антропогенного загрязнения донных отложений Нижнего Дона / М. А. Сазыкина, И. С. Сазыкин, М. И. Хаммами [и др.] // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова. – 2016. – Т. 12, № 1. – С. 5–11.

29. Сазыкина, М. А. Способ выявления генотоксичности химических веществ : патент RU 2179581 Рос. Федерация / М. А. Сазыкина, В. А. Чистяков, Н. В. Войнова. – 2002.

30. Сазыкина, М. А. Экотоксикологическая оценка водных экосистем с использованием биосенсоров на основе люминесцентных бактерий : диссертация ... кандидата биологических наук : 03.02.08 / Сазыкина Марина Александровна. – Ростов-на-Дону : Южный федеральный университет, 2014.

31. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания. – Москва, 2021.

32. СанПиН 2.1.3684-21. Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения. – Москва, 2021.

33. Седова, Д. А. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных из воды поверхностных водоёмов и сточных вод / Д. А. Седова, М. А. Сазыкина, П. В. Журавлев [и др.] // Теоретическая и прикладная экология. – 2025. – № 3. – С. 82–90. – DOI: 10.25750/1995-4301-2025-3-082-090.

34. СП 32.13330.2018. Канализация. Наружные сети и сооружения. – Москва : Минстрой России, 2018.

35. Федеральная служба государственной статистики. Раздел «Окружающая среда» [Электронный ресурс]. – URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/11194> (дата обращения: 12.04.2026).

36. Федеральный закон «О водоснабжении и водоотведении» от 07.12.2011 № 416-ФЗ. – Москва, 2011.

37. Чеботарь, И. В. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации бактерий и грибов III–IV группы патогенности / И. В. Чеботарь, С. В. Поликарпова, Ю. А. Бочарова, Н. А. Маянский // Лабораторная служба. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 78–86. – DOI: 10.17116/labs20187278-86.

38. Швецов, В. Н. Расчёт сооружений биологической очистки сточных вод с удалением биогенных элементов / В. Н. Швецов, К. М. Морозова // Водоснабжение и санитарная техника. – 2013. – № 11. – С. 42–47.

39. Abe, K. Biofilms: hot spots of horizontal gene transfer (HGT) in aquatic environments, with a focus on a new HGT mechanism / K. Abe, N. Nomura, S. Suzuki // FEMS Microbiology Ecology. – 2020. – Vol. 96, no. 5. – Art. fiae031. – DOI: 10.1093/femsec/fiae031.

40. Acosta, A. The future of antibiotic use in livestock / A. Acosta, W. Tirkaso, F. Nicolli [et al.] // Nature Communications. – 2025. – Vol. 16. – Art. 2469. – DOI: 10.1038/s41467-025-56825-7.

41. Akanbi, O. E. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from recreational waters and beach sand in Eastern Cape Province of South Africa / O. E. Akanbi, H. A. Njom, J. Fri [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2017. – Vol. 14. – Art. 1001.
42. Al, S. A molecular investigation of carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* and blaKPC, blaNDM and blaOXA-48 genes in raw milk / S. Al, H. Hızlısoy, N. Ertaş Onmaz [et al.] // *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*. – 2020. – Vol. 26, no. 3. – P. 391–396. – DOI: 10.9775/kvfd.2019.23329.
43. Amaya, E. Antibiotic resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from different aquatic environmental sources in León, Nicaragua / E. Amaya, D. Reyes, M. Paniagua [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2012. – Vol. 18, no. 9. – P. E347–E354. – DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03930.x.
44. Anderson, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance / M. J. Anderson // *Austral Ecology*. – 2001. – Vol. 26, no. 1. – P. 32–46.
45. Andrieu, M. Ecological risk assessment of the antibiotic enrofloxacin applied to *Pangasius* catfish farms in the Mekong Delta, Vietnam / M. Andrieu, A. Rico, T. M. Phu [et al.] // *Chemosphere*. – 2015. – Vol. 119. – P. 407–414.
46. Azhogina, T. Bioaccessible PAH influence on distribution of antibiotic resistance genes and soil toxicity of different types of land use / T. Azhogina, M. Sazykina, E. Konstantinova [et al.] // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2022. – Vol. 30. – P. 12695–12713.
47. Azli, B. Metagenomics insights into the microbial diversity and microbiome network analysis on the heterogeneity of influent to effluent water / B. Azli, M. N. Razak, A. R. Omar [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2022. – Vol. 13. – Art. 779196. – DOI: 10.3389/fmicb.2022.779196.
48. Barancheshme, F. Strategies to combat antibiotic resistance in the wastewater treatment plants / F. Barancheshme, M. Munir // *Frontiers in Microbiology*. – 2018. – Vol. 8. – Art. 2603. – DOI: 10.3389/fmicb.2017.02603.

49. Begmatov, S. A. High efficiency of removal of pathogenic microorganisms at wastewater treatment plants in the city of Moscow / S. A. Begmatov, A. G. Dorofeev, N. V. Pimenov [et al.] // *Microbiology*. – 2023. – Vol. 92, no. 5. – P. 521–526. – DOI: 10.31857/S0026365623600153.

50. Begmatov, S. A. Metagenomic insights into the wastewater resistome before and after purification at large scale wastewater treatment plants in the Moscow city / S. A. Begmatov, A. V. Beletsky, A. G. Dorofeev [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14, no. 1. – Art. 6349. – DOI: 10.1038/s41598-024-56870-0.

51. Begmatov, S. A. The structure of microbial communities of activated sludge of large-scale wastewater treatment plants in the city of Moscow / S. A. Begmatov, A. G. Dorofeev, V. V. Kadnikov [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12, no. 1. – Art. 3458. – DOI: 10.1038/s41598-022-07132-4.

52. Benjamini, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing / Y. Benjamini, Y. Hochberg // *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*. – 1995. – Vol. 57, no. 1. – P. 289–300.

53. Bhat, B. A. Integrins in the development of antimicrobial resistance: critical review and perspectives / B. A. Bhat, R. A. Mir, H. Qadri [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 1231938. – DOI: 10.3389/fmicb.2023.1231938.

54. Bolyen, E. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2 / E. Bolyen [et al.] // *Nature Biotechnology*. – 2019. – Vol. 37, no. 8. – P. 852–857.

55. Bray, J. R. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin / J. R. Bray, J. T. Curtis // *Ecological Monographs*. – 1957. – Vol. 27, no. 4. – P. 325–349.

56. Brouwer, H. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum* / H. Brouwer, T. Murphy, L. McArdle // *Environmental Toxicology and Chemistry*. – 1990. – Vol. 9, no. 11. – P. 1353–1358.

57. Brunton, L. A. Identifying hotspots for antibiotic resistance emergence and selection, and elucidating pathways to human exposure: application of a systems-thinking approach to aquaculture systems / L. A. Brunton, A. P. Desbois, M. Garza [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2019. – Vol. 687. – P. 1344–1356. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.134.
58. Cabello, F. C. Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health / F. C. Cabello, H. P. Godfrey, A. Tomova [et al.] // *Environmental Microbiology*. – 2013. – Vol. 15. – P. 1917–1942.
59. Calderón, K. Archaeal diversity in biofilm technologies applied to treat urban and industrial wastewater: recent advances and future prospects / K. Calderón, A. González-Martínez, C. Gómez-Silván [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2013. – Vol. 14, no. 9. – P. 18572–18598. – DOI: 10.3390/ijms140918572.
60. Callahan, B. J. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data / B. J. Callahan [et al.] // *Nature Methods*. – 2016. – Vol. 13, no. 7. – P. 581–583.
61. Centers for Disease Control and Prevention. Antimicrobial resistance facts and stats [Electronic resource]. – 2025. – URL: <https://www.cdc.gov/antimicrobial-resistance/data-research/facts-stats/index.html> (date of access: 22.02.2026).
62. Chao, A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population / A. Chao // *Scandinavian Journal of Statistics*. – 1984. – P. 265–270.
63. Cheliukanov, M. Whole cells of microorganisms – a powerful bioanalytical tool for measuring integral parameters of pollution: a review / M. Cheliukanov, G. Gurkin, R. Perchikov [et al.] // *Biosensors*. – 2025. – Vol. 15, no. 5. – Art. 290. – DOI: 10.3390/bios15050290.
64. Chowdhury, N. N. Nanoparticles as vectors for antibiotic resistance: the association of silica nanoparticles with environmentally relevant extracellular antibiotic resistance genes / N. N. Chowdhury, A. R. Cox, M. R. Wiesner // *Science*

of the Total Environment. – 2021. – Vol. 761. – Art. 143261. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.143261.

65. Cohan, F. M. The potential for genetic exchange by transformation within a natural population of *Bacillus subtilis* / F. M. Cohan, M. S. Roberts, E. C. King // *Evolution*. – 1991. – Vol. 45, no. 6. – P. 1393–1421. – DOI: 10.1111/j.1558-5646.1991.tb02644.x.

66. Colomer-Lluch, M. Antibiotic resistance genes in the bacteriophage DNA fraction of environmental samples / M. Colomer-Lluch, J. Jofre, M. Muniesa // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, no. 3. – Art. e17549. – DOI: 10.1371/journal.pone.0017549.

67. Cyprowski, M. Anaerobic bacteria in wastewater treatment plant / M. Cyprowski, A. Stobnicka-Kupiec, A. Ławniczek-Wałczyk [et al.] // *International Archives of Occupational and Environmental Health*. – 2018. – Vol. 91, no. 5. – P. 571–579. – DOI: 10.1007/s00420-018-1307-6.

68. Danilov, V. S. Sensory bioluminescence systems based on lux-operons of various-type luminescent bacteria / V. S. Danilov, A. P. Zarubina, G. E. Erochnikov [et al.] // *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Biologiya*. – 2002. – No. 3. – P. 20–24.

69. Darra, R. Wastewater treatment processes and microbial community / R. Darra, M. B. Hammad, F. Alshamsi [et al.] // *Metagenomics to Bioremediation* / eds. T. Bharagava, S. Saxena. – Academic Press, 2023. – P. 329–355.

70. de Celis, M. Tuning up microbiome analysis to monitor WWTPs' biological reactors functioning / M. de Celis, I. Belda, R. Ortiz-Álvarez [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, no. 1. – Art. 4079. – DOI: 10.1038/s41598-020-61092-1.

71. Domínguez, D. C. Development of antimicrobial resistance: future challenges / D. C. Domínguez, S. M. Meza-Rodriguez // *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology* / eds. M. N. V. Prasad et al. – Butterworth-Heinemann, 2019. – P. 383–408.

72. Dong, H. Interactions of microplastics and antibiotic resistance genes and their effects on the aquaculture environments / H. Dong, Y. Chen, J. Wang [et al.] //

Journal of Hazardous Materials. – 2021. – Vol. 403. – Art. 123961. – DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123961.

73. Drane, K. The role of wastewater treatment plants in dissemination of antibiotic resistance: source, measurement, removal and risk assessment / K. Drane, M. Sheehan, A. Whelan [et al.] // Antibiotics. – 2024. – Vol. 13, no. 7. – Art. 668. – DOI: 10.3390/antibiotics13070668.

74. Dunn, A. K. Regulation of bioluminescence in *Photobacterium leiognathi* strain KNH6 / A. K. Dunn, B. A. Rader, E. V. Stabb, M. J. Mandel // Journal of Bacteriology. – 2015. – Vol. 197, no. 23. – P. 3676–3685.

75. Emamgholitabar Malekshah, F. Investigating the prevalence of class 1, 2, and 3 integrons in carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wound infections / F. Emamgholitabar Malekshah, M. Gholami, M. Pahlavanian, H. R. Goli // Scientific Reports. – 2025. – Vol. 15, no. 1. – Art. 31857. – DOI: 10.1038/s41598-025-17577-y.

76. Fan, X. Y. Temporal dynamics of bacterial communities and predicted nitrogen metabolism genes in a full-scale wastewater treatment plant / X. Y. Fan, J. F. Gao, K. L. Pan [et al.] // RSC Advances. – 2017. – Vol. 7, no. 89. – P. 56317–56327. – DOI: 10.1039/C7RA10704H.

77. Fang, H. Molecular biomarkers and influential factors of denitrification in a full-scale biological nitrogen removal plant / H. Fang, B. H. Olson, P. Asvapathanagul [et al.] // Microorganisms. – 2019. – Vol. 8, no. 1. – Art. 11. – DOI: 10.3390/microorganisms8010011.

78. Fatimazahra, S. Review of hospital effluents: special emphasis on characterization, impact, and treatment of pollutants and antibiotic resistance / S. Fatimazahra, M. Latifa, S. Laila, K. Monsif // Environmental Monitoring and Assessment. – 2023. – Vol. 195, no. 3. – Art. 393. – DOI: 10.1007/s10661-023-11002-5.

79. Fróes, A. M. Distribution and classification of serine β -lactamases in Brazilian hospital sewage and other environmental metagenomes deposited in public

databases / A. M. Fróes, F. F. da Mota, R. R. Cuadrat, A. M. Dávila // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – Art. 1790. – DOI: 10.3389/fmicb.2016.01790.

80. Fuentefria, D. B. Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: are they genetically related? / D. B. Fuentefria, A. E. Ferreira, G. Corção // *Journal of Environmental Management*. – 2011. – Vol. 92, no. 1. – P. 250–255. – DOI: 10.1016/j.jenvman.2010.09.001.

81. Gao, N. Cellulose-mediated floc formation by the activated sludge bacterium *Shinella zoogloeoides* ATCC 19623 / N. Gao, J. Dai, Y. Liu [et al.] // *BMC Microbiology*. – 2022. – Vol. 22, no. 1. – Art. 104. – DOI: 10.1186/s12866-022-02516-y.

82. Gillieatt, B. F. Unravelling the mechanisms of antibiotic and heavy metal resistance co-selection in environmental bacteria / B. F. Gillieatt, N. V. Coleman // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2024. – Vol. 48, no. 4. – Art. fuae017. – DOI: 10.1093/femsre/fuae017.

83. Girotti, S. Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria / S. Girotti, E. N. Ferri, M. G. Fumo, E. Maiolini // *Analytica Chimica Acta*. – 2008. – Vol. 608, no. 1. – P. 2–29.

84. Griffin, J. S. Regional synchrony in full-scale activated sludge bioreactors due to deterministic microbial community assembly / J. S. Griffin, G. F. Wells // *The ISME Journal*. – 2017. – Vol. 11, no. 2. – P. 500–511.

85. Gu, Y. Bacterial community composition and function in a tropical municipal wastewater treatment plant / Y. Gu, B. Li, X. Zhong [et al.] // *Water*. – 2022. – Vol. 14, no. 10. – Art. 1537. – DOI: 10.3390/w14101537.

86. Gupta, A. A new *Bacteroides* conjugative transposon that carries an *ermB* gene / A. Gupta, H. Vlamakis, N. Shoemaker, A. A. Salyers // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2003. – Vol. 69, no. 11. – P. 6455–6463. – DOI: 10.1128/AEM.69.11.6455-6463.2003.

87. Helsens, N. Antibiotic resistance genes and bacterial communities of farmed rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*) / N. Helsens, S. Calvez, H.

Prevost [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2020. – Vol. 11. – Art. e590902. – DOI: 10.3389/fmicb.2020.590902.

88. Henriksson, P. J. G. Unpacking factors influencing antimicrobial use in global aquaculture and their implication for management: a review from a systems perspective / P. J. G. Henriksson, A. Rico, M. Troell [et al.] // *Sustainability Science*. – 2018. – Vol. 13, no. 4. – P. 1105–1120. – DOI: 10.1007/s11625-017-0511-8.

89. Huang, Y. Changes in bacterial communities during treatment of municipal wastewater in arctic wastewater stabilization ponds / Y. Huang, C. M. Ragush, L. H. Johnston [et al.] // *Frontiers in Water*. – 2021. – Vol. 3. – Art. 710853. – DOI: 10.3389/frwa.2021.710853.

90. Huang, Z. J. Identification and antibiotic resistance genes detection of bacteria in aquaculture organisms and aquatic environment / Z. J. Huang [et al.] // *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*. – 2012. – Vol. 51, no. 6. – P. 92–96.

91. Inniss, E. C. Use of redox potentials in wastewater treatment / E. C. Inniss // *Water Encyclopedia*. – 2005. – Vol. 1. – P. 399–400.

92. Ito, T. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC / T. Ito, K. Okuma, X. X. Ma [et al.] // *Drug Resistance Updates*. – 2003. – Vol. 6, no. 1. – P. 41–52. – DOI: 10.1016/s1368-7646(03)00003-7.

93. Jang, H. M. Prevalence of antibiotic resistance genes from effluent of coastal aquaculture, South Korea / H. M. Jang, Y. B. Kim, S. Choi [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2018. – Vol. 233. – P. 1049–1057. – DOI: 10.1016/j.envpol.2017.10.006.

94. Jo, H. Fish farm effluents as a source of antibiotic resistance gene dissemination on Jeju Island, South Korea / H. Jo, S. Raza, A. Farooq [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2021. – Vol. 276. – Art. e116764. – DOI: 10.1016/j.envpol.2021.116764.

95. Johnsborg, O. Natural genetic transformation: prevalence, mechanisms and function / O. Johnsborg, V. Eldholm, L. S. Havarstein // *Research in*

Microbiology. – 2007. – Vol. 158, no. 10. – P. 767–778. – DOI: 10.1016/j.resmic.2007.09.004.

96. Ju, F. Wastewater treatment plant resistomes are shaped by bacterial composition, genetic exchange, and upregulated expression in the effluent microbiomes / F. Ju, K. Beck, X. Yin [et al.] // The ISME Journal. – 2019. – Vol. 13, no. 2. – P. 346–360. – DOI: 10.1038/s41396-018-0277-8.

97. Kalinowska, A. Insights into the microbial community of treated wastewater, its year-round variability and impact on the receiver, using cultivation, microscopy and amplicon-based methods / A. Kalinowska, M. Pierpaoli, K. Jankowska [et al.] // Science of the Total Environment. – 2022. – Vol. 829. – Art. 154630. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.154630.

98. Kamika, I. Impacts of cerium oxide nanoparticles on bacterial community in activated sludge / I. Kamika, M. Tekere // AMB Express. – 2017. – Vol. 7. – Art. 63. – DOI: 10.1186/s13568-017-0365-6.

99. Kaur, R. Microbiology of hospital wastewater / R. Kaur, B. Yadav, R. D. Tyagi // Current Developments in Biotechnology and Bioengineering / eds. R. D. Tyagi, R. Y. Surampalli. – Elsevier, 2020. – P. 103–148. – DOI: 10.1016/B978-0-12-819722-6.00004-3.

100. Khalidi-Idrissi, A. Recent advances in the biological treatment of wastewater rich in emerging pollutants produced by pharmaceutical industrial discharges / A. Khalidi-Idrissi, A. Madinzi, A. Anouzla [et al.] // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2023. – Vol. 20, no. 10. – P. 11719–11740.

101. Khan, F. A. Prevalence and diversity of antibiotic resistance genes in Swedish aquatic environments impacted by household and hospital wastewater / F. A. Khan, B. Söderquist, J. Jass // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – Art. 688. – DOI: 10.3389/fmicb.2019.00688.

102. Khmelevtsova, L. E. The dissemination of antibiotic resistance in various environmental objects (Russia) / L. E. Khmelevtsova, I. S. Sazykin, T. N. Azhogina,

M. A. Sazykina // Environmental Science and Pollution Research. – 2020. – Vol. 27, no. 35. – P. 43569–43581. – DOI: 10.1007/s11356-020-10231-2.

103. Khmelevtsova, L. Effect of mineral fertilizers and pesticides application on bacterial community and antibiotic-resistance genes distribution in agricultural soils / L. Khmelevtsova, T. Azhogina, S. Karchava [et al.] // Agronomy. – 2024. – Vol. 14, no. 5. – Art. 1021. – DOI: 10.3390/agronomy14051021.

104. Kim, T. Dissolved oxygen concentrations affect the function but not the relative abundance of nitrifying bacterial populations in full-scale municipal wastewater treatment bioreactors during cold weather / T. Kim, M. Hite, L. Rogacki [et al.] // Science of the Total Environment. – 2021. – Vol. 781. – Art. 146719.

105. Kim, Y. K. The capacity of wastewater treatment plants drives bacterial community structure and its assembly / Y. K. Kim, K. Yoo, M. S. Kim [et al.] // Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9, no. 1. – Art. 14809. – DOI: 10.1038/s41598-019-50952-0.

106. Kleerebezem, R. Cyclic conversions in the nitrogen cycle / R. Kleerebezem, S. Lücker // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 622504.

107. Kostich, M. S. Concentrations of prioritized pharmaceuticals in effluents from 50 large wastewater treatment plants in the US and implications for risk estimation / M. S. Kostich, A. L. Batt, J. M. Lazorchak // Environmental Pollution. – 2014. – Vol. 184. – P. 354–359.

108. Kotova, V. Y. Lux-biosensors for detection of SOS-response, heat shock, and oxidative stress / V. Y. Kotova, I. V. Manukhov, G. B. Zavilgelsky // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2010. – Vol. 46, no. 8. – P. 781–788.

109. Kruskal, W. H. Use of ranks in one-criterion variance analysis / W. H. Kruskal, W. A. Wallis // Journal of the American Statistical Association. – 1952. – Vol. 47, no. 260. – P. 583–621.

110. LaMartina, E. L. Urban wastewater bacterial communities assemble into seasonal steady states / E. L. LaMartina, A. A. Mohaimani, R. J. Newton //

Microbiome. – 2021. – Vol. 9, no. 1. – Art. 116. – DOI: 10.1186/s40168-021-01038-5.

111. Lan, L. A review on the prevalence and treatment of antibiotic resistance genes in hospital wastewater / L. Lan, Y. Wang, Y. Chen [et al.] // *Toxics*. – 2025. – Vol. 13, no. 4. – Art. 263. – DOI: 10.3390/toxics13040263.

112. Leclercq, S. O. Persistence of commensal multidrug-resistant *Escherichia coli* in the broiler production pyramid is best explained by strain recirculation from the rearing environment / S. O. Leclercq, P. Bocherreau, I. Foubert [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1406854. – DOI: 10.3389/fmicb.2024.1406854.

113. Lekagul, A. Patterns of antibiotic use in global pig production: a systematic review / A. Lekagul, V. Tangcharoensathien, S. Yeung // *Veterinary and Animal Science*. – 2019. – Vol. 7. – Art. 100058. – DOI: 10.1016/j.vas.2019.100058.

114. Lekunberri, I. Contribution of bacteriophage and plasmid DNA to the mobilization of antibiotic resistance genes in a river receiving treated wastewater discharges / I. Lekunberri, M. Villagrasa, J. L. Balcázar, C. M. Borrego // *Science of the Total Environment*. – 2017. – Vol. 601–602. – P. 206–209.

115. Leonard, F. C. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review / F. C. Leonard, B. K. Markey // *The Veterinary Journal*. – 2008. – Vol. 175, no. 1. – P. 27–36.

116. Li, G. Natural sphalerite nanoparticles can accelerate horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic-resistance genes / G. Li, X. Chen, H. Yin [et al.] // *Environment International*. – 2020. – Vol. 136. – Art. 105497. – DOI: 10.1016/j.envint.2020.105497.

117. Li, P. Role of microorganisms for low-temperature, high-efficiency, and stable operation of on-site multi-family rural sewage treatment system (MRST) / P. Li, S. Ma, Y. Zhang [et al.] // *Journal of Water Process Engineering*. – 2025. – Vol. 74. – Art. 107846.

118. Li, S. Potential stimulation of nitrifying bacteria activities and genera by landfill leachate / S. Li, M. S. Islam, S. Yang [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2024. – Vol. 912. – Art. 168620.

119. Libisch, B. Isolation of an integron-borne blaVIM-4 type metallo-beta-lactamase gene from a carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Hungary / B. Libisch, M. Gacs, K. Csiszár [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2004. – Vol. 48, no. 9. – P. 3576–3578. – DOI: 10.1128/AAC.48.9.3576-3578.2004.

120. Liu, Q. Deterioration of sludge characteristics and promotion of antibiotic resistance genes spread with the co-existing of polyvinylchloride microplastics and tetracycline in the sequencing batch reactor / Q. Liu, Y. Li, Y. Sun [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2024. – Vol. 906. – Art. 167544.

121. Liu, X. Nitrogen removal performance and the biocenosis with microalgae consortium nitrifying and anammox bacteria in an upflow reactor / X. Liu, J. Chen, T. Lu, Y. Qin // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10, no. 15. – Art. e34794. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e34794.

122. Liu, X. Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: a review / X. Liu, J. C. Steele, X. Z. Meng // *Environmental Pollution*. – 2017. – Vol. 223. – P. 161–169. – DOI: 10.1016/j.envpol.2017.01.003.

123. Lorenz, M. G. Bacterial gene transfer by natural genetic transformation in the environment / M. G. Lorenz, W. Wackernagel // *Microbiological Reviews*. – 1994. – Vol. 58, no. 3. – P. 563–602.

124. Lu, J. Both silver ions and silver nanoparticles facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes / J. Lu, Y. Wang, M. Jin [et al.] // *Water Research*. – 2020. – Vol. 169. – Art. 115229. – DOI: 10.1016/j.watres.2019.115229.

125. Lu, Q. Effect of wastewater treatment plant discharge on the bacterial community in a receiving river / Q. Lu, J. Mao, H. Xia [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2022. – Vol. 239. – Art. 113641.

126. Lu, X. Social network of filamentous *Sphaerotilus* during activated sludge bulking: identifying the roles of signaling molecules and verifying a novel control strategy / X. Lu, C. Chen, L. Fu [et al.] // *Chemical Engineering Journal*. – 2023. – Vol. 454. – Art. 140109.

127. Lulijwa, R. Antibiotic use in aquaculture, policies and regulation, health and environmental risks: a review of the top 15 major producers / R. Lulijwa, E. J. Rupia, A. C. Alfaro // *Reviews in Aquaculture*. – 2019. – Vol. 12, no. 2. – P. 640–663. – DOI: 10.1111/raq.12344.

128. Luo, T. Microplastics enhance the prevalence of antibiotic resistance genes in anaerobic sludge digestion by enriching antibiotic-resistant bacteria in surface biofilm and facilitating the vertical and horizontal gene transfer / T. Luo, X. Dai, W. Wei [et al.] // *Environmental Science & Technology*. – 2023. – Vol. 57, no. 39. – P. 14611–14621. – DOI: 10.1021/acs.est.3c02815.

129. Lupp, C. The *Vibrio fischeri* quorum-sensing systems *ain* and *lux* sequentially induce luminescence gene expression and are important for persistence in the squid host / C. Lupp, M. Urbanowski, E. P. Greenberg, E. G. Ruby // *Molecular Microbiology*. – 2003. – Vol. 50, no. 1. – P. 319–331.

130. Ma, Y. Large-scale comparative analysis reveals different bacterial community structures in full- and lab-scale wastewater treatment bioreactors / Y. Ma, D. Rui, H. Dong [et al.] // *Water Research*. – 2023. – Vol. 242. – Art. 120222. – DOI: 10.1016/j.watres.2023.120222.

131. Ma, Y. The microbiome, resistome, and their co-evolution in sewage at a hospital for infectious diseases in Shanghai, China / Y. Ma, N. Wu, T. Zhang [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2024. – Vol. 12. – Art. e03900-23. – DOI: 10.1128/spectrum.03900-23.

132. Madoni, P. Survey of filamentous microorganisms from bulking and foaming activated-sludge plants in Italy / P. Madoni, D. Davoli, G. Gibin // *Water Research*. – 2000. – Vol. 34, no. 6. – P. 1767–1772.

133. Magdaleno, A. Ecotoxicological and genotoxic evaluation of Buenos Aires city (Argentina) hospital wastewater / A. Magdaleno, A. B. Juárez, V. Dragani

[et al.] // Journal of Toxicology. – 2014. – Vol. 2014. – Art. 248461. – DOI: 10.1155/2014/248461.

134. Mahaney, A. P. Persistence of wastewater-associated antibiotic resistant bacteria in river microcosms / A. P. Mahaney, R. B. Franklin // Science of the Total Environment. – 2022. – Vol. 819. – Art. 153099.

135. Maheepala, S. S. A syphon-downflow hanging sponge (DHS) reactor for improving the denitrification efficiency of sewage water treatment / S. S. Maheepala, M. Hatamoto, Y. Mitsuishi [et al.] // Environmental Technology & Innovation. – 2023. – Vol. 31. – Art. 103205.

136. Majeed, H. J. Evaluation of metagenomic-enabled antibiotic resistance surveillance at a conventional wastewater treatment plant / H. J. Majeed, M. V. Riquelme, B. C. Davis [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2021. – Vol. 12. – Art. 657954. – DOI: 10.3389/fmicb.2021.657954.

137. Makkaew, P. Persisting antibiotic resistance gene pollution and its association with human sewage sources in tropical marine beach waters / P. Makkaew, A. Kongprajug, N. Chyerochana [et al.] // International Journal of Hygiene and Environmental Health. – 2021. – Vol. 238. – Art. 113859. – DOI: 10.1016/j.ijheh.2021.113859.

138. Mallick, H. Multivariable association discovery in population-scale meta-omics studies / H. Mallick [et al.] // PLOS Computational Biology. – 2021. – Vol. 17, no. 11. – Art. e1009442.

139. Maniatis, T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual / T. Maniatis. – Cold Spring Harbor : Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.

140. Mann, H. B. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other / H. B. Mann, D. R. Whitney // The Annals of Mathematical Statistics. – 1947. – P. 50–60.

141. Matlou, D. P. Virulence profiles of vancomycin-resistant enterococci isolated from surface and ground water utilized by humans in the North West Province, South Africa: a public health perspective / D. P. Matlou, M. E. A. Bissong,

C. K. Tchatchouang [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2019. – Vol. 26. – P. 15105–15114. – DOI: 10.1007/s11356-019-04836-5.

142. Matuszewska, D. Wastewater as a driver of heavy metal pollution in river catchments — a study of possible scenarios / D. Matuszewska, E. Kiedrzyńska, M. Harnisz, M. Kiedrzyński // Journal of Hazardous Materials. – 2025. – Art. 140029.

143. McDonald, D. Greengenes2 unifies microbial data in a single reference tree / D. McDonald [et al.] // Nature Biotechnology. – 2024. – Vol. 42, no. 5. – P. 715–718.

144. McIlroy, S. J. 'Candidatus Competibacter'-lineage genomes retrieved from metagenomes reveal functional metabolic diversity / S. J. McIlroy, M. Albertsen, E. K. Andresen [et al.] // The ISME Journal. – 2014. – Vol. 8, no. 3. – P. 613–624. – DOI: 10.1038/ismej.2013.162.

145. McLellan, S. L. Diversity and population structure of sewage-derived microorganisms in wastewater treatment plant influent / S. L. McLellan, S. M. Huse, S. R. Mueller-Spitz [et al.] // Environmental Microbiology. – 2010. – Vol. 12, no. 2. – P. 378–392. – DOI: 10.1111/j.1462-2920.2009.02075.x.

146. Meng, Y. Evaluating the effects of hospital wastewater treatment on bacterial composition and antimicrobial resistome / Y. Meng, Y. Xu, D. Hu [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2025. – Vol. 16. – Art. 1620677. – DOI: 10.3389/fmicb.2025.1620677.

147. Michaelis, C. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms / C. Michaelis, E. Grohmann // Antibiotics. – 2023. – Vol. 12, no. 2. – Art. 328. – DOI: 10.3390/antibiotics12020328.

148. Miranda, C. D. Current status of the use of antibiotics and the antimicrobial resistance in the Chilean Salmon Farms / C. D. Miranda, F. A. Godoy, M. R. Lee // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1284. – DOI: 10.3389/fmicb.2018.01284.

149. Mirzaie, S. Molecular detection and occurrence of vancomycin resistance genes (vanA, B, C1, C2/C3) among Enterococcus species isolated from farm

ostriches / S. Mirzaie, I. Faghiri, M. Askari Badouei, S. A. Madani // *Veterinary Medicine and Science*. – 2023. – Vol. 9, no. 1. – P. 226–233.

150. Moghaddam, M. N. Genetic properties of blaCTX-M and blaPER β -lactamase genes in clinical isolates of Enterobacteriaceae by polymerase chain reaction / M. N. Moghaddam, M. H. Beidokhti, S. A. Jamehdar, M. Ghahraman // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. – 2014. – Vol. 17, no. 5. – P. 378–383.

151. Monteagudo de Barros, V. Detection of metallo-beta-lactamase-producing genes blaSPM and blaNDM in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from wastewater in Southern Brazil / V. Monteagudo de Barros, B. S. da Rocha, J. Rhoden [et al.] // *Journal of Water and Health*. – 2024. – Vol. 22, no. 4. – P. 689–700. – DOI: 10.2166/wh.2024.305.

152. Moosavian, M. Molecular detection of vanA and vanB genes among vancomycin-resistant enterococci in ICU-hospitalized patients in Ahvaz, Iran / M. Moosavian, H. Ghadri, Z. Samli // *Infection and Drug Resistance*. – 2018. – Vol. 11. – P. 2269–2275.

153. Morgan-Sagastume, F. Substrate-dependent denitrification of abundant probe-defined denitrifying bacteria in activated sludge / F. Morgan-Sagastume, J. L. Nielsen, P. H. Nielsen // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2008. – Vol. 66, no. 2. – P. 447–461.

154. Mulchandani, R. Global trends in antimicrobial use in food-producing animals: 2020 to 2030 / R. Mulchandani, Y. Wang, M. Gilbert, T. P. Van Boeckel // *PLOS Global Public Health*. – 2023. – Vol. 3, no. 2. – Art. e0001305. – DOI: 10.1371/journal.pgph.0001305.

155. Murray, L. M. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants / L. M. Murray, A. Hayes, J. Snape [et al.] // *npj Antimicrobial Resistance*. – 2024. – Vol. 2. – Art. 9.

156. Mutuku, C. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance genes in wastewater: resistance mechanisms and antimicrobial resistance control approaches / C. Mutuku, Z. Gazdag, S. Melegh // *World Journal of Microbiology and*

Biotechnology. – 2022. – Vol. 38, no. 9. – Art. 152. – DOI: 10.1007/s11274-022-03334-0.

157. Muziasari, W. I. Aquaculture changes the profile of antibiotic resistance and mobile genetic element associated genes in Baltic Sea sediments / W. I. Muziasari, K. Pärnänen, T. A. Johnson [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2016. – Vol. 92, no. 4. – Art. fiw052. – DOI: 10.1093/femsec/fiw052.

158. Muziasari, W. I. Sulphonamide and trimethoprim resistance genes persist in sediments at Baltic Sea aquaculture farms but are not detected in the surrounding environment / W. I. Muziasari, S. Managaki, K. Pärnänen [et al.] // PLOS One. – 2014. – Vol. 9, no. 3. – Art. e92702. – DOI: 10.1371/journal.pone.0092702.

159. Męcik, M. Hospital and municipal wastewater as a source of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in the environment: a review / M. Męcik, K. Stefaniak, M. Harnisz, E. Korzeniewska // Environmental Science and Pollution Research. – 2024. – Vol. 31, no. 36. – P. 48813–48838. – DOI: 10.1007/s11356-024-34436-x.

160. Namatovu, A. Antimicrobial resistance profiles and detection of *mecA*, *blaCTX-M-1*, and *blaSHV* genes in bacteria among diabetic foot ulcer patients from selected referral hospitals in Uganda / A. Namatovu, B. M. Vahwere, I. Ntulume [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2025. – Vol. 25, no. 1. – Art. 1498.

161. Neher, T. P. Comparison of antibiotic resistance genes in swine manure storage pits of Iowa, USA / T. P. Neher, M. L. Soupir, D. S. Andersen [et al.] // Frontiers in Antibiotics. – 2023. – Vol. 2. – Art. 1116785. – DOI: 10.3389/frabi.2023.1116785.

162. Niestępski, S. Environmental fate of Bacteroidetes, with particular emphasis on *Bacteroides fragilis* group bacteria and their specific antibiotic resistance genes, in activated sludge wastewater treatment plants / S. Niestępski, M. Harnisz, S. Ciesielski [et al.] // Journal of Hazardous Materials. – 2020. – Vol. 394. – Art. 122544.

163. Nijvipakul, S. LuxG is a functioning flavin reductase for bacterial luminescence / S. Nijvipakul, J. Wongratana, C. Suadee [et al.] // *Journal of Bacteriology*. – 2008. – Vol. 190, no. 5. – P. 1531–1538.
164. Nishino, K. Function and inhibitory mechanisms of multidrug efflux pumps / K. Nishino, S. Yamasaki, R. Nakashima [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 737288. – DOI: 10.3389/fmicb.2021.737288.
165. Nittami, T. Exploring the operating factors controlling Kouleothrix (type 1851), the dominant filamentous bacterial population, in a full-scale A2O plant / T. Nittami, R. Kasakura, T. Kobayashi [et al.] // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, no. 1. – Art. 6809.
166. Numberger, D. Characterization of bacterial communities in wastewater with enhanced taxonomic resolution by full-length 16S rRNA sequencing / D. Numberger, L. Ganzert, L. Zoccarato [et al.] // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – Art. 9673. – DOI: 10.1038/s41598-019-46015-z.
167. Nunes-Halldorson, V. D. S. Bioluminescent bacteria: lux genes as environmental biosensors / V. D. S. Nunes-Halldorson, N. L. Duran // *Brazilian Journal of Microbiology*. – 2003. – Vol. 34. – P. 91–96.
168. Olano, H. Wastewater discharge with phytoplankton may favor cyanobacterial development in the main drinking water supply river in Uruguay / H. Olano, F. Martigani, A. Somma, L. Aubriot // *Environmental Monitoring and Assessment*. – 2019. – Vol. 191, no. 3. – Art. 146. – DOI: 10.1007/s10661-019-7288-4.
169. Otinov, G. D. Positive and negative effects of metal oxide nanoparticles on antibiotic resistance genes transfer / G. D. Otinov, A. V. Lokteva, A. D. Petrova [et al.] // *Antibiotics*. – 2020. – Vol. 9. – Art. 742. – DOI: 10.3390/antibiotics9110742.
170. Park, J. Evaluating ecotoxicological assays for comprehensive risk assessment of toxic metals present in industrial wastewaters in the Republic of Korea / J. Park, K. Shin, H. Lee [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2023. – Vol. 867. – Art. 161536. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.161536.

171. Piccirillo, A. Drinking water and biofilm as sources of antimicrobial resistance in free-range organic broiler farms / A. Piccirillo, R. Tolosi, L. Mughini-Gras [et al.] // *Antibiotics*. – 2024. – Vol. 13, no. 9. – Art. 808. – DOI: 10.3390/antibiotics13090808.
172. Pielou, E. C. The measurement of diversity in different types of biological collections / E. C. Pielou // *Journal of Theoretical Biology*. – 1966. – Vol. 13. – P. 131–144.
173. Preisner, M. Mitigation of eutrophication caused by wastewater discharge: a simulation-based approach / M. Preisner, E. Neverova-Dziopak, Z. Kowalewski // *Ambio*. – 2021. – Vol. 50, no. 2. – P. 413–424.
174. Prieto Riquelme, M. V. Demonstrating a comprehensive wastewater-based surveillance approach that differentiates globally sourced resistomes / M. V. Prieto Riquelme, E. Garner, S. Gupta [et al.] // *Environmental Science and Technology*. – 2022. – Vol. 56, no. 21. – P. 14982–14993. – DOI: 10.1021/acs.est.1c08673.
175. Pérez, K. F. B. New methodological improvements in the Microtox® solid phase assay / K. F. B. Pérez, R. Charlatchka, L. Sahli, J. F. Féraud // *Chemosphere*. – 2012. – Vol. 86, no. 1. – P. 105–110.
176. Qiu, Z. Nanoalumina promotes the horizontal transfer of multiresistance genes mediated by plasmids across genera / Z. Qiu, Y. Yu, Z. Chen [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109, no. 13. – P. 4944–4949. – DOI: 10.1073/pnas.1107254109.
177. Qiu, X. Distribution characteristics of integrons and correlation analysis of antibiotic resistance in urine isolated *Enterobacter cloacae* / X. Qiu, H. Zhang, M. Jiang [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 1462742. – DOI: 10.3389/fcimb.2024.1462742.
178. Quintela-Baluja, M. Dynamics of integron structures across a wastewater network — implications to resistance gene transfer / M. Quintela-Baluja, D. Frigon, M. Abouelnaga [et al.] // *Water Research*. – 2021. – Vol. 206. – Art. 117720.

179. Reverter, M. Effects of local Polynesian plants and algae on growth and expression of two immune-related genes in orbicular batfish (*Platax orbicularis*) / M. Reverter, D. Saulnier, R. David [et al.] // *Fish & Shellfish Immunology*. – 2016. – Vol. 52. – P. 82–88.

180. Rodriguez-Mozaz, S. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river / S. Rodriguez-Mozaz, S. Chamorro, E. Marti [et al.] // *Water Research*. – 2015. – Vol. 69. – P. 234–242.

181. Rumky, J. Fate of antibiotic resistance genes (ARGs) in wastewater treatment plant: preliminary study on identification before and after ultrasonication / J. Rumky, A. Kruglova, E. Repo // *Environmental Research*. – 2022. – Vol. 215, Pt 1. – Art. 114281. – DOI: 10.1016/j.envres.2022.114281.

182. Sabourin, L. Uptake of pharmaceuticals, hormones and parabens into vegetables grown in soil fertilized with municipal biosolids / L. Sabourin, P. Duenk, S. Bonte-Gelok [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2012. – Vol. 431. – P. 233–236.

183. Sadowy, E. Drug-resistant and hospital-associated *Enterococcus faecium* from wastewater, riverine estuary and anthropogenically impacted marine catchment basin / E. Sadowy, A. Luczkiewicz // *BMC Microbiology*. – 2014. – Vol. 14. – Art. 66. – DOI: 10.1186/1471-2180-14-66.

184. Sakulworakan, R. Insight into whole genome of *Aeromonas veronii* isolated from freshwater fish by resistome analysis reveal extensively antibiotic resistant traits / R. Sakulworakan, P. Chokmangmeepisarn, N. DinhHung [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2021. – Vol. 12. – Art. e733668. – DOI: 10.3389/fmicb.2021.733668.

185. Samy, S. Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance / S. Samy // *The Clinical Biochemist Reviews*. – 2021. – No. 7.

186. Santos, L. Analytical strategies for the detection and quantification of antibiotic residues in aquaculture fishes: a review / L. Santos, F. Ramos // *Trends in*

Food Science & Technology. – 2016. – Vol. 52. – P. 16–30. – DOI: 10.1016/j.tifs.2016.03.015.

187. Savin, M. Free-floating extracellular DNA (exDNA) in different wastewaters: status quo on exDNA-associated antimicrobial resistance genes / M. Savin, J. A. Hammerl, J. Hassa [et al.] // Environmental Pollution. – 2023. – Vol. 337. – Art. 122560. – DOI: 10.1016/j.envpol.2023.122560.

188. Sazykin, I. S. Biosensor-based comparison of the ecotoxicological contamination of the wastewaters of Southern Russia and Southern Germany / I. S. Sazykin, M. A. Sazykina, L. E. Khmelevtsova [et al.] // International Journal of Environmental Science and Technology. – 2016. – Vol. 13, no. 3. – P. 945–954.

189. Sazykin, I. S. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of lower reaches of the Don River (Russia) and their ecotoxicologic assessment by bacterial lux-biosensors / I. S. Sazykin, M. A. Sazykina, M. I. Khammami [et al.] // Environmental Monitoring and Assessment. – 2015. – Vol. 187, no. 5. – Art. 277.

190. Schilcher, K. Staphylococcal biofilm development: structure, regulation, and treatment strategies / K. Schilcher, A. R. Horswill // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2020. – Vol. 84, no. 3. – Art. e00026-19. – DOI: 10.1128/MMBR.00026-19.

191. Schmieger, H. Transduction of multiple drug resistance of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104 / H. Schmieger, P. Schicklmaier // FEMS Microbiology Letters. – 1999. – Vol. 170, no. 1. – P. 251–256. – DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13381.x.

192. Scicchitano, D. Dispersion of antimicrobial resistant bacteria in pig farms and in the surrounding environment / D. Scicchitano, D. Leuzzi, G. Babbi [et al.] // Animal Microbiome. – 2024. – Vol. 6, no. 1. – Art. 17. – DOI: 10.1186/s42523-024-00305-8.

193. Seiler, C. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture / C. Seiler, T. U.

Berendonk // *Frontiers in Microbiology*. – 2012. – Vol. 3. – Art. 399. – DOI: 10.3389/fmicb.2012.00399.

194. Selvarajan, R. Taxonomic and functional distribution of bacterial communities in domestic and hospital wastewater system: implications for public and environmental health / R. Selvarajan, T. Sibanda, J. Pandian, K. Mearns // *Antibiotics*. – 2021. – Vol. 10, no. 9. – Art. 1059. – DOI: 10.3390/antibiotics10091059.

195. Shah, S. Q. A. Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites / S. Q. A. Shah, F. C. Cabello, T. M. L'abée-Lund [et al.] // *Environmental Microbiology*. – 2014. – Vol. 16, no. 5. – P. 1310–1320. – DOI: 10.1111/1462-2920.12421.

196. Shamsizadeh, Z. Wastewater surveillance of antibiotic resistance and class 1 integron-integrase genes: potential impact of wastewater characteristics on genes profile / Z. Shamsizadeh, M. Nikaeen, F. Mohammadi [et al.] // *Heliyon*. – 2024. – Vol. 10, no. 9. – Art. e29601. – DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e29601.

197. Shanks, O. C. Comparison of the microbial community structures of untreated wastewaters from different geographic locales / O. C. Shanks, R. J. Newton, C. A. Kelty [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2013. – Vol. 79, no. 9. – P. 2906–2913. – DOI: 10.1128/AEM.03448-12.

198. Shannon, C. E. *The Mathematical Theory of Communication* / C. E. Shannon, W. Weaver. – Urbana : University of Illinois Press, 1998.

199. Shen, W. SeqKit2: a Swiss army knife for sequence and alignment processing / W. Shen, B. Sipos, L. Zhao // *iMeta*. – 2024. – Vol. 3, no. 3. – Art. e191.

200. Simo Tchuinte, P. L. Characterisation of class 3 integrons with oxacillinase gene cassettes in hospital sewage and sludge samples from France and Luxembourg / P. L. Simo Tchuinte, T. Stalder, S. Venditti [et al.] // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2016. – Vol. 48, no. 4. – P. 431–434. – DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.06.018.

201. Simpson, E. H. Measurement of diversity / E. H. Simpson // *Nature*. – 1949. – Vol. 163, no. 4148. – P. 688.

202. Singleton, C. M. The novel genus 'Candidatus Phosphoribacter', previously identified as *Tetrasphaera*, is the dominant polyphosphate accumulating lineage in EBPR wastewater treatment plants worldwide / C. M. Singleton, F. Petriglieri, K. Wasmund [et al.] // *The ISME Journal*. – 2022. – Vol. 16, no. 6. – P. 1605–1616. – DOI: 10.1038/s41396-022-01212-z.
203. Slager, J. Antibiotic-induced replication stress triggers bacterial competence by increasing gene dosage near the origin / J. Slager, M. Kjos, L. Attaiech [et al.] // *Cell*. – 2014. – Vol. 157, no. 2. – P. 395–406. – DOI: 10.1016/j.cell.2014.01.068.
204. Smyth, C. Communities of plasmids as strategies for antimicrobial resistance gene survival in wastewater treatment plant effluent / C. Smyth, R. J. Leigh, T. T. Do, F. Walsh // *npj Antimicrobials and Resistance*. – 2025. – Vol. 3, no. 1. – Art. 78.
205. Song, C. Occurrence of antibiotics and their impacts to primary productivity in fishponds around Tai Lake, China / C. Song, C. Zhang, L. M. Fan [et al.] // *Chemosphere*. – 2016. – Vol. 161. – P. 127–135.
206. Soni, K. Municipal wastewater treatment plant showing a potential reservoir for clinically relevant MDR bacterial strains co-occurrence of ESBL genes and integron-integrase genes / K. Soni, D. Kothamasi, R. Chandra // *Journal of Environmental Management*. – 2024. – Vol. 351. – Art. 119938. – DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.119938.
207. Spearman, C. The proof and measurement of association between two things / C. Spearman // *International Journal of Epidemiology*. – 2010. – Vol. 39, no. 5. – P. 1137–1150.
208. Spindler, A. Beta-lactams resistance and presence of class 1 integron in *Pseudomonas* spp. isolated from untreated hospital effluents in Brazil / A. Spindler, L. M. Otton, D. B. Fuentesfria [et al.] // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 2012. – Vol. 102. – P. 73–81. – DOI: 10.1007/s10482-012-9714-2.

209. Stratton, H. M. Influence of season on the microbial population dynamics of activated sludge / H. M. Stratton, T. Nittami, N. H. Esteban [et al.] // *Journal of Applied Microbiology*. – 2024. – Vol. 135, no. 1. – Art. lxae014.
210. Sun, H. Differential profiles of antibiotic resistance genes in activated sludge and biofilm in wastewater treatment plants / H. Sun, W. Li, S. Zhang [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2025. – Art. 139955.
211. Szczepanowski, R. Detection of 140 clinically relevant antibiotic-resistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics / R. Szczepanowski, B. Linke, I. Krahn [et al.] // *Microbiology*. – 2009. – Vol. 155. – P. 2306–2319.
212. Tan, L. Arctic antibiotic resistance gene contamination, a result of anthropogenic activities and natural origin / L. Tan, L. Li, N. Ashbolt [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2018. – Vol. 621. – P. 1176–1184.
213. Thomas, C. M. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene transfer between bacteria / C. M. Thomas, K. M. Nielsen // *Nature Reviews Microbiology*. – 2005. – Vol. 3, no. 9. – P. 711–721. – DOI: 10.1038/nrmicro1234.
214. Tomova, A. Antimicrobial resistance genes in marine bacteria and human uropathogenic *Escherichia coli* from a region of intensive aquaculture / A. Tomova, L. Ivanova, A. H. Buschmann [et al.] // *Environmental Microbiology Reports*. – 2015. – Vol. 7. – P. 803–809.
215. Ushakov, V. Y. SOS-system of DNA repair in bacteria / V. Y. Ushakov // *Bulletin of Perm University. Biology Series*. – 2010. – No. 2. – P. 19–30.
216. Vandewalle, J. L. *Acinetobacter*, *Aeromonas* and *Trichococcus* populations dominate the microbial community within urban sewer infrastructure / J. L. Vandewalle, G. W. Goetz, S. M. Huse [et al.] // *Environmental Microbiology*. – 2012. – Vol. 14, no. 9. – P. 2538–2552. – DOI: 10.1111/j.1462-2920.2012.02757.x.
217. Vaz-Moreira, I. Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome / I. Vaz-Moreira, O. C.

Nunes, C. M. Manaia // FEMS Microbiology Reviews. – 2014. – Vol. 38, no. 4. – P. 761–778. – DOI: 10.1111/1574-6976.12062.

218. Verkholiak, N. S. Reduction of perchlorate ions by the sulfate-reducing bacteria *Desulfotomaculum* sp. and *Desulfovibrio desulfuricans* / N. S. Verkholiak, T. B. Peretyatko, A. A. Halushka // Regulatory Mechanisms in Biosystems. – 2020. – No. 2. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/reduction-of-perchlorate-ions-by-the-sulfate-reducing-bacteria-desulfotomaculum-sp-and-desulfovibrio-desulfuricans> (дата обращения: 12.04.2026).

219. Vishnivetskaya, T. A. The *Exiguobacterium* genus: biodiversity and biogeography / T. A. Vishnivetskaya, S. Kathariou, J. M. Tiedje // Extremophiles. – 2009. – Vol. 13, no. 3. – P. 541–555. – DOI: 10.1007/s00792-009-0243-5.

220. Wang, C. Microbial phylogeny determines transcriptional response of resistome to dynamic composting processes / C. Wang, D. Dong, P. J. Strong [et al.] // Microbiome. – 2017. – Vol. 5. – Art. 103. – DOI: 10.1186/s40168-017-0324-0.

221. Wang, G. H. Highly sensitive luminescent bioassay using recombinant *Escherichia coli* biosensor for rapid detection of low Cr(VI) concentration in environmental water / G. H. Wang, C. Y. Cheng, T. H. Tsai [et al.] // Biosensors. – 2021. – Vol. 11, no. 10. – Art. 357. – DOI: 10.3390/bios11100357.

222. Wang, J. Effect of temperature on activated sludge settleability and microbial community structure / J. Wang, Y. Peng, X. Yang [et al.]. – 2016.

223. Wang, J. PAHs accelerate the propagation of antibiotic resistance genes in coastal water microbial community / J. Wang, J. Wang, Z. Zhao [et al.] // Environmental Pollution. – 2017. – Vol. 231. – P. 1145–1152.

224. Wang, K. Antibiotic residues in wastewaters from sewage treatment plants and pharmaceutical industries: occurrence, removal and environmental impacts / K. Wang, T. Zhuang, Z. Su [et al.] // Science of the Total Environment. – 2021. – Vol. 788. – Art. 147811. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.147811.

225. Wang, M. Fate of potential indicator antimicrobial resistance genes (ARGs) and bacterial community diversity in simulated manure-soil microcosms /

M. Wang, P. Liu, W. Xiong [et al.] // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2018. – Vol. 147. – P. 817–823.

226. Wang, N. A comprehensive analysis on spread and distribution characteristic of antibiotic resistance genes in livestock farms of southeastern China / N. Wang, X. Guo, Z. Yan [et al.] // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, no. 7. – Art. e0156889. – DOI: 10.1371/journal.pone.0156889.

227. Wang, Q. Heavy metal copper accelerates the conjugative transfer of antibiotic resistance genes in freshwater microcosms / Q. Wang, M. Zhuang, J. Ding [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2020. – Vol. 717. – Art. 137055. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137055.

228. Wang, Q. Mechanisms of conjugative transfer of antibiotic resistance genes induced by extracellular polymeric substances: insights into molecular diversities and electron transfer properties / Q. Wang, X. Li, K. Zhou [et al.] // *Journal of Hazardous Materials*. – 2024. – Vol. 476. – Art. 135181.

229. Wang, X. Bacterial exposure to ZnO nanoparticles facilitates horizontal transfer of antibiotic resistance genes / X. Wang, F. Yang, J. Zhao [et al.] // *NanoImpact*. – 2018. – Vol. 10. – P. 61–67. – DOI: 10.1016/j.impact.2017.11.006.

230. Wang, Y. Integrated metagenomic and metatranscriptomic profiling reveals differentially expressed resistomes in human, chicken, and pig gut microbiomes / Y. Wang, Y. Hu, F. Liu [et al.] // *Environment International*. – 2020. – Vol. 138. – Art. 105649. – DOI: 10.1016/j.envint.2020.105649.

231. Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis* / H. Wickham. – Cham : Springer International Publishing, 2016.

232. Williams, A. D. Impact of contrasting poultry exposures on human, poultry, and wastewater antibiotic resistomes in Bangladesh / A. D. Williams, E. Rousham, A. L. Neal [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2023. – Vol. 11, no. 6. – Art. e0176323. – DOI: 10.1128/spectrum.01763-23.

233. von Wintersdorff, C. J. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer / C. J. von Wintersdorff, J.

Penders, J. M. van Niekerk [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2016. – Vol. 7. – Art. 173. – DOI: 10.3389/fmicb.2016.00173.

234. Wu, X. Selective enrichment of bacterial pathogens by microplastic biofilm / X. Wu, J. Pan, M. Li [et al.] // *Water Research*. – 2019. – Vol. 165. – Art. 114979. – DOI: 10.1016/j.watres.2019.114979.

235. Wágner, D. S. Seasonal microbial community dynamics complicates the evaluation of filamentous bulking mitigation strategies in full-scale WRRFs / D. S. Wágner, M. Peces, M. Nierychlo [et al.] // *Water Research*. – 2022. – Vol. 216. – Art. 118340.

236. Xie, Y. Insight into impact of sewage discharge on microbial dynamics and pathogenicity in river ecosystem / Y. Xie, X. Liu, H. Wei [et al.] // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12, no. 1. – Art. 6894. – DOI: 10.1038/s41598-022-09579-x.

237. Xiong, W. Selective pressure of antibiotics on ARGs and bacterial communities in manure-polluted freshwater-sediment microcosms / W. Xiong, Y. Sun, X. Ding [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2015. – Vol. 6. – Art. 194.

238. Xu, C. Metagenomic insights into differences in environmental resistome profiles between integrated and monoculture aquaculture farms in China / C. Xu, Z. Lv, Y. Shen [et al.] // *Environment International*. – 2020. – Vol. 144. – Art. 106005.

239. Xu, S. Analysis of bacterial community structure of activated sludge from wastewater treatment plants in winter / S. Xu, J. Yao, M. Ainiwaer [et al.] // *BioMed Research International*. – 2018. – Vol. 2018. – Art. 8278970. – DOI: 10.1155/2018/8278970.

240. Yang, J. Marine sediment bacteria harbor antibiotic resistance genes highly similar to those found in human pathogens / J. Yang, C. Wang, C. Shu [et al.] // *Microbial Ecology*. – 2013. – Vol. 65. – P. 975–981.

241. Yang, R. Role of microbial communities and their functional gene in anammox process for biodegradation of bisphenol A and S in pharmaceutical wastewater / R. Yang, Y. Sha, Z. Sun [et al.] // *Toxics*. – 2025. – Vol. 13, no. 4. – Art. 252. – DOI: 10.3390/toxics13040252.

242. Yatsuyanagi, J. Class 1 integron containing metallo-beta-lactamase gene blaVIM-2 in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains isolated in Japan / J. Yatsuyanagi, S. Saito, S. Harata [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2004. – Vol. 48, no. 2. – P. 626–628. – DOI: 10.1128/AAC.48.2.626-628.2004.

243. Yin, S. Performance of sewage sludge treatment for the removal of antibiotic resistance genes: status and prospects / S. Yin, L. Gao, X. Fan [et al.] // *Science of the Total Environment*. – 2024. – Vol. 907. – Art. 167862. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2023.167862.

244. Yuan, J. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a typical estuary aquaculture region of Hangzhou Bay, China / J. Yuan, M. Ni, M. Liu [et al.] // *Marine Pollution Bulletin*. – 2019. – Vol. 138. – P. 376–384. – DOI: 10.1016/j.marpolbul.2018.11.037.

245. Zagainova, A. V. The rationale for introducing the indices «Generalized coliform bacteria» and «*Escherichia coli*» into the scheme of sanitary and microbiological control of water quality as indices of fecal contamination / A. V. Zagainova, G. M. Trukhina, Yu. A. Rakhmanin [et al.] // *Hygiene and Sanitation*. – 2020. – Vol. 99, no. 12. – P. 1353–1359.

246. Zavilgelsky, G. B. Action of 1,1-dimethylhydrazine on bacterial cells is determined by hydrogen peroxide / G. B. Zavilgelsky, V. Y. Kotova, I. V. Manukhov // *Mutation Research*. – 2007. – Vol. 634, no. 1–2. – P. 172–176. – DOI: 10.1016/j.mrgentox.2007.07.012.

247. Zavilgelsky, G. B. Sensor bioluminescent systems based on lux operons for the toxic substances detection / G. B. Zavilgelsky, V. Y. Kotova, I. V. Manukhov // *Khimicheskaya Fizika*. – 2012. – Vol. 31, no. 10. – P. 15–20.

248. Zettler, E. R. Life in the «Plastisphere»: microbial communities on plastic marine debris / E. R. Zettler, T. J. Mincer, L. A. Amaral-Zettler // *Environmental Science & Technology*. – 2013. – Vol. 47, no. 13. – P. 7137–7146. – DOI: 10.1021/es401288x.

249. Zhang, K. Novel multiplex PCR assay for characterization and concomitant subtyping of staphylococcal cassette chromosome mec types I to V in

methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / K. Zhang, J.-A. McClure, S. Elsayed [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2005. – Vol. 43. – P. 5026–5033.

250. Zhang, L. Bacterial community evolution along full-scale municipal wastewater treatment processes / L. Zhang, Y. Cheng, C. Qian, W. Lu // *Journal of Water and Health*. – 2020. – Vol. 18, no. 5. – P. 665–680.

251. Zhang, L. Composition of bacterial communities in municipal wastewater treatment plant / L. Zhang, Z. Shen, W. Fang, G. Gao // *Science of the Total Environment*. – 2019. – Vol. 689. – P. 1181–1191. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.432.

252. Zhang, S. Copper nanoparticles and copper ions promote horizontal transfer of plasmid-mediated multi-antibiotic resistance genes across bacterial genera / S. Zhang, D. Wu, X. Duan [et al.] // *Environment International*. – 2019. – Vol. 129. – P. 478–487. – DOI: 10.1016/j.envint.2019.05.054.

253. Zhang, S. Hospital wastewater as a reservoir for antibiotic resistance genes: a meta-analysis / S. Zhang, J. Huang, Z. Zhao [et al.] // *Frontiers in Public Health*. – 2020. – Vol. 8. – Art. 574968. – DOI: 10.3389/fpubh.2020.574968.

254. Zhang, X. Silicon dioxide nanoparticles have contrasting effects on the temporal dynamics of sulfonamide and β -lactam resistance genes in soils amended with antibiotics / X. Zhang, J. Li, D. Li [et al.] // *Environmental Research Letters*. – 2020. – Vol. 15, no. 3. – DOI: 10.1088/1748-9326/ab7131.

255. Zhang, Y. Sub-inhibitory concentrations of heavy metals facilitate the horizontal transfer of plasmid-mediated antibiotic resistance genes in water environment / Y. Zhang, A. Z. Gu, T. Cen [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2018. – Vol. 237. – P. 74–82.

256. Zhang, Z. P. Antibiotics and antimicrobials phylogeny / Z. P. Zhang // *Cap. Med*. – 2004. – Vol. 2. – P. 14–16.

257. Zhao, K. Research progress on the origin, fate, impacts and harm of microplastics and antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants / K. Zhao, C. Li, F. Li // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14. – Art. 9719. – DOI: 10.1038/s41598-024-60458-z.

258. Zhu, C. Global diversity and distribution of antibiotic resistance genes in human wastewater treatment systems / C. Zhu, L. Wu, D. Ning [et al.] // Nature Communications. – 2025. – Vol. 16. – Art. 4006. – DOI: 10.1038/s41467-025-59019-3.

259. Zhuravlev, P. The barrier role of wastewater treatment plants against opportunistic bacteria / P. Zhuravlev, M. Morozova, D. Sedova, V. Zubtsov // International Scientific Conference on Agricultural Machinery Industry «Interagromash». – Cham : Springer International Publishing, 2022. – P. 2924–2932.

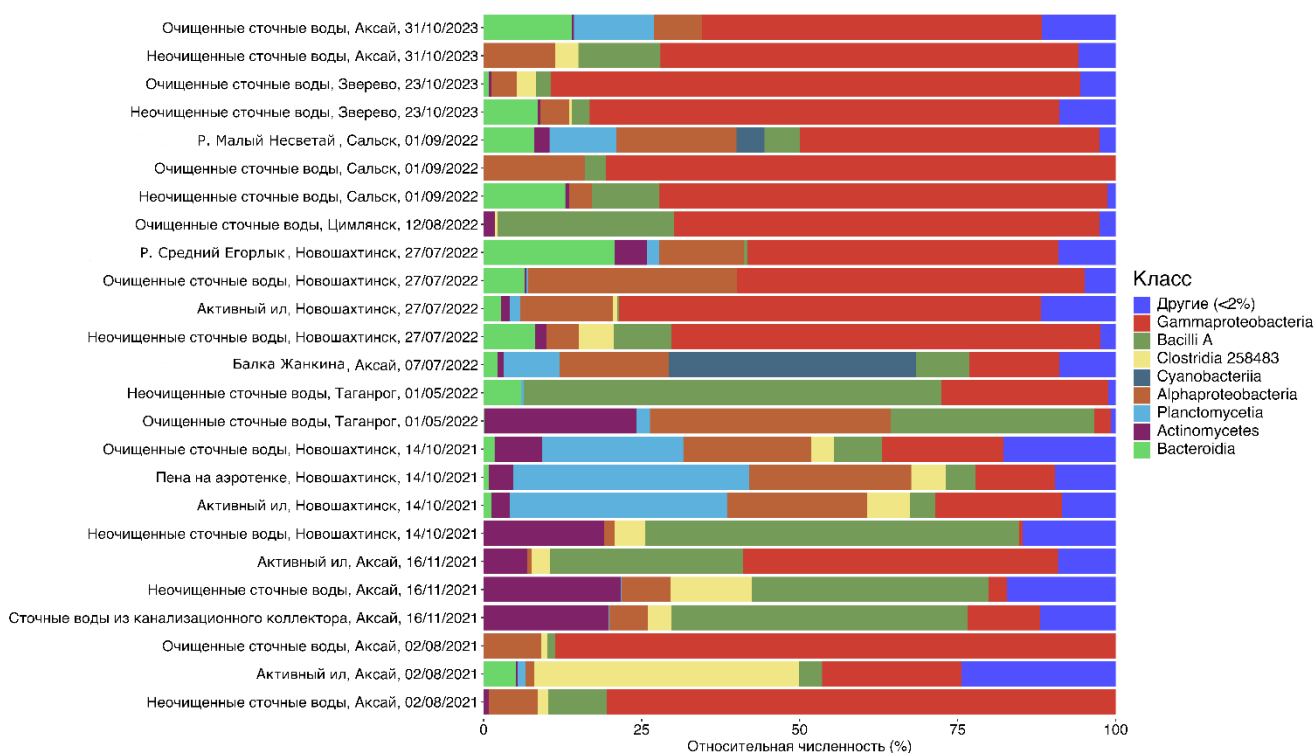
ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А. Места и даты отбора исследуемых проб воды

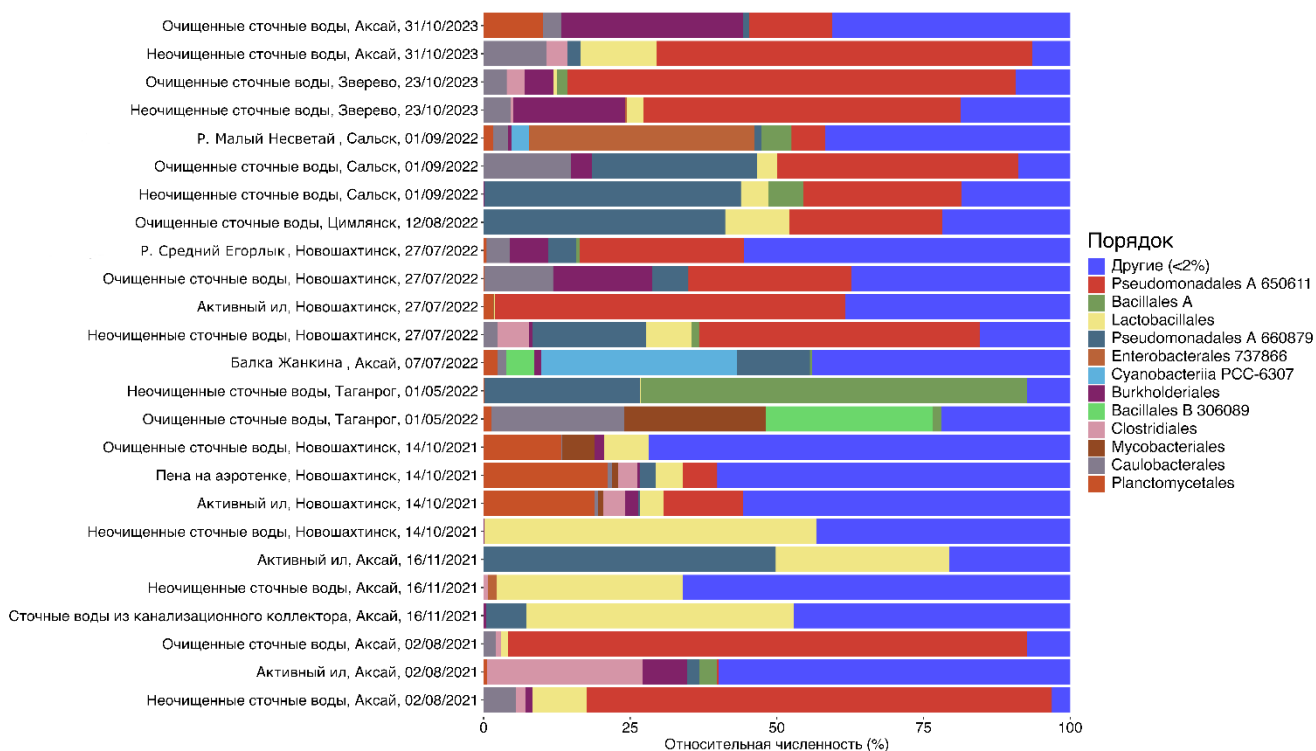
№ пробы	Места отбора проб	Населенный пункт	Дата отбора
1	Неочищенные сточные воды	Сальск	01.09.2022
2	Очищенные сточные воды		
3	Р. Малый Несветай		
4	Неочищенные сточные воды	Таганрог	01.05.2022
5	Очищенные сточные воды		
6	Неочищенные сточные воды	Аксай	31.10.2023
7	Очищенные сточные воды		
8	Неочищенные сточные воды	Новошахтинск	27.07.2022
9	Активный ил		
10	Очищенные сточные воды		
11	Р. Средний Егорлык	Зверево	23.10.2023
12	Неочищенные сточные воды		
13	Очищенные сточные воды		
14	Неочищенные сточные воды	Аксай	02.08.2021
15	Активный ил		
16	Очищенные сточные воды		
17	Очищенные сточные воды	Цимлянск	12.08.2022
18	Сточные воды из канализационного коллектора	Аксай	16.11.2021
19	Неочищенные сточные воды		
20	Активный ил		
21	Неочищенные сточные воды	Новошахтинск	14.10.2021
22	Активный ил		
23	Пена на аэротенке		
24	Очищенные сточные воды		
25	Балка Жанкина (р. Темерник)	Аксай	07.07.2022
Г. Ростов-на-Дону			
№ пробы	Места отбора проб	Дата отбора	
26	Водозабор	22.03.2021	
27	Городской пляж		
28	Речной вокзал		
29	Р. Дон в районе устья р. Темерник		
30	Водозабор	12.05.2021	
31	Городской пляж		
32	Речной вокзал		
33	Р. Дон в районе устья р. Темерник		
34	Водозабор	8.06.2021	
35	Городской пляж		
36	Речной вокзал		
37	Р. Дон в районе устья р. Темерник		
38	Водозабор	25.03.2022	
39	Городской пляж		

40	Речной вокзал	
41	Р. Дон в районе устья р. Темерник	
42	Место сброса СТВ	
43	Водозабор	17.05.2022
44	Городской пляж	
45	Речной вокзал	
46	Р. Дон в районе устья р. Темерник	27.06.2023
47	Водозабор	
48	Городской пляж	
49	Речной вокзал	10.10.2023
50	Р. Дон в районе устья р. Темерник	
51	Водозабор	
52	Городской пляж	
53	Речной вокзал	
54	Р. Дон в районе устья р. Темерник	
55	Место сброса СТВ	
56	Устье р. Темерник	
Г. Азов		
57	Водозабор	15.06.2021
58	Место сброса СТВ	
59	Место рекреации	
60	Водозабор	20.07.2021
61	Место сброса СТВ	
62	Место рекреации	
63	Водозабор	5.10.2021
64	Место сброса СТВ	
65	Место рекреации	
66	Водозабор	9.11.2021
67	Место сброса СТВ	
68	Место рекреации	
69	Водозабор	29.03.2022
70	Место сброса СТВ	
71	Место рекреации	
72	Водозабор	5.07.2022
73	Место сброса СТВ	
74	Место рекреации	
75	Водозабор	13.09.2022
76	Место сброса СТВ	
77	Место рекреации	
78	Водозабор	18.04.2023
79	Место сброса СТВ	
80	Место рекреации	
81	Водозабор	4.07.2023
82	Место сброса СТВ	
83	Место рекреации	

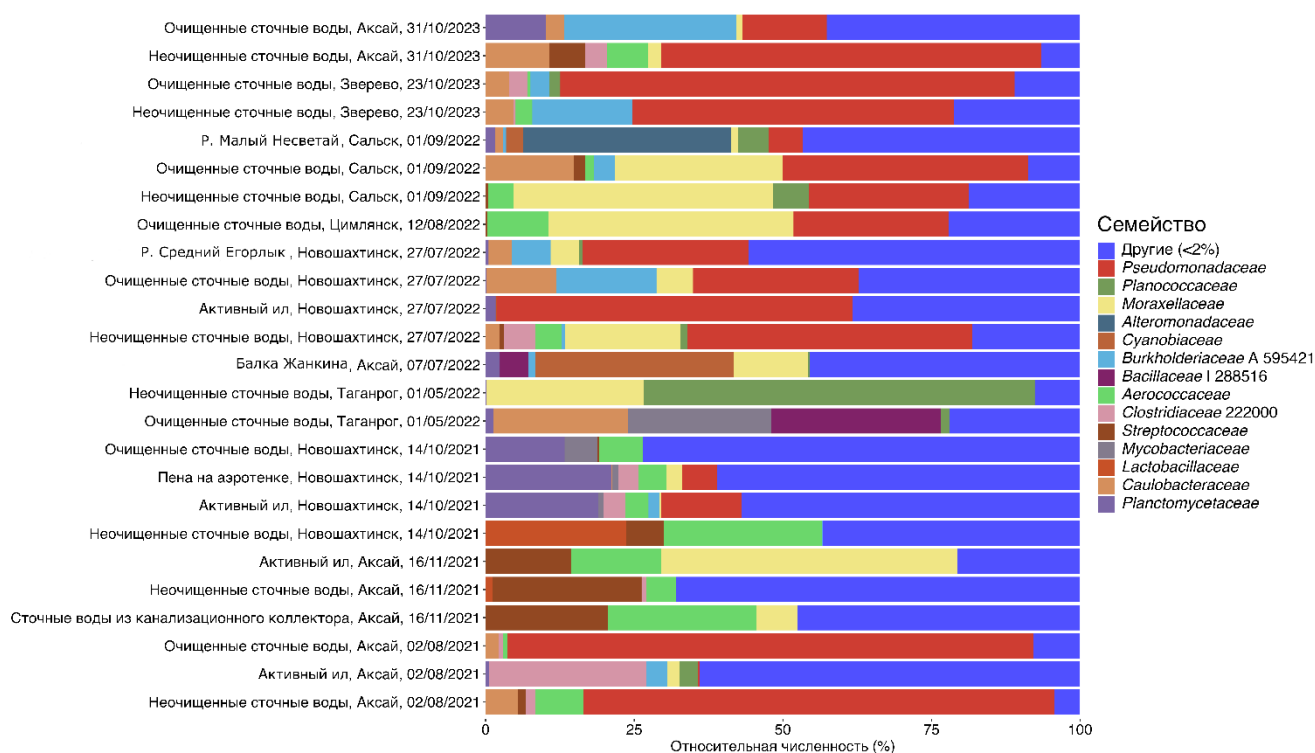
Приложение Б. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге класса во всех исследованных пунктах отбора проб воды.



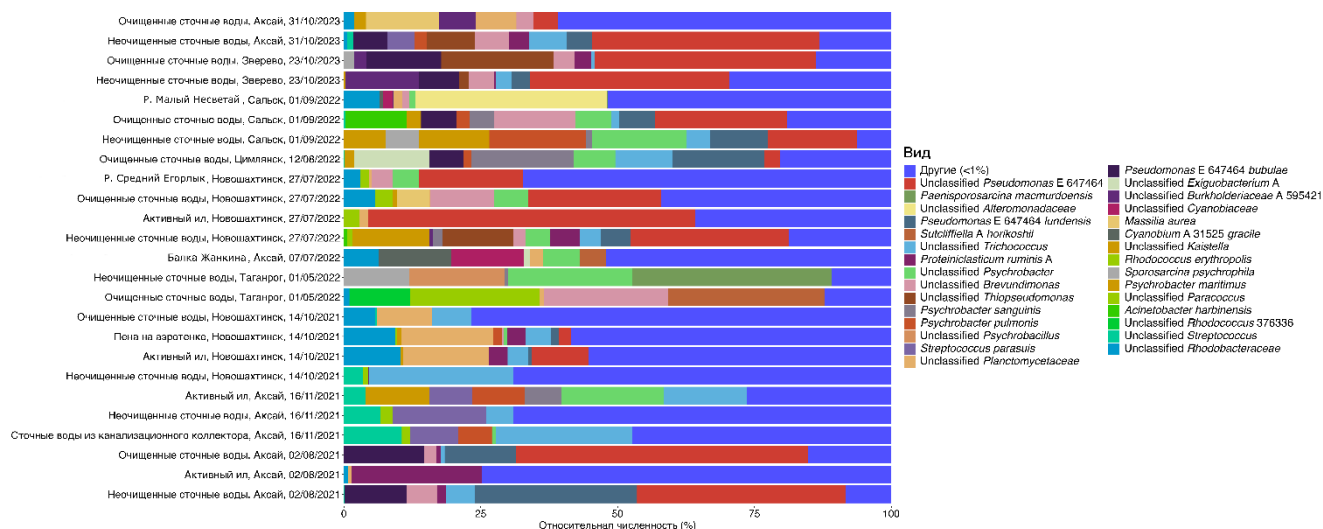
Приложение В. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге порядка во всех исследованных пунктах отбора проб воды.



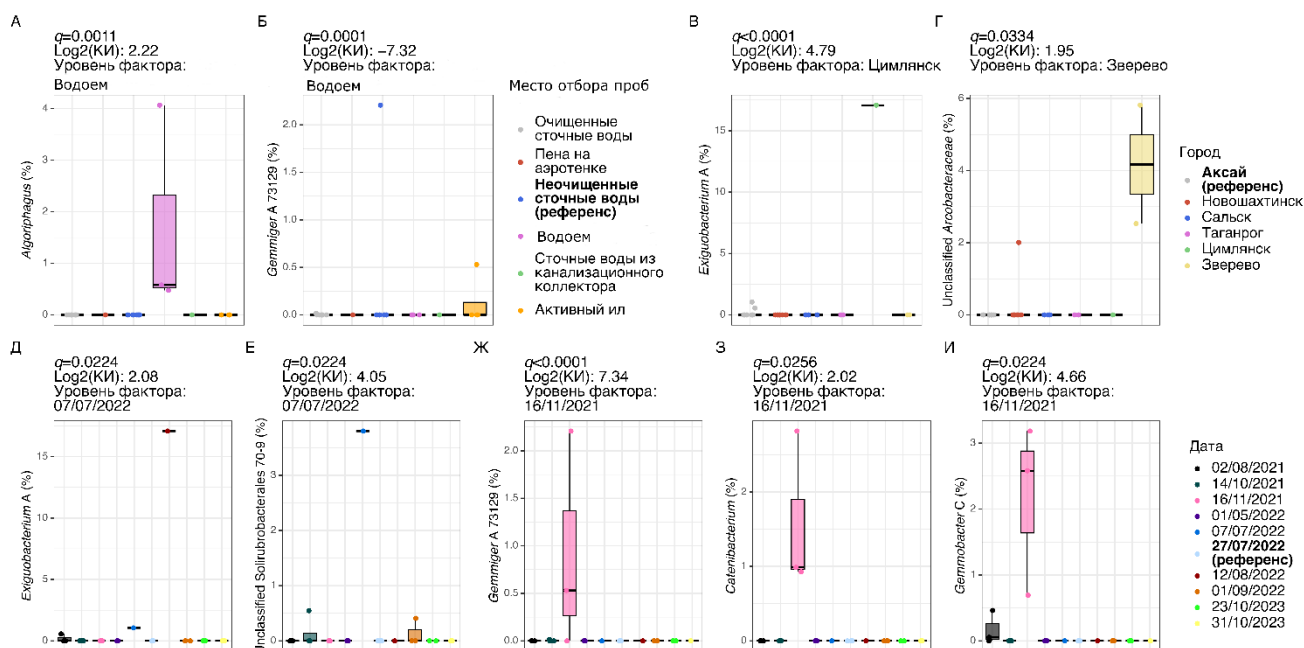
Приложение Г. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге семейства во всех исследованных пунктах отбора проб воды.



Приложение Д. Относительная численность бактериальных сообществ на ранге вида во всех исследованных пунктах отбора проб воды.

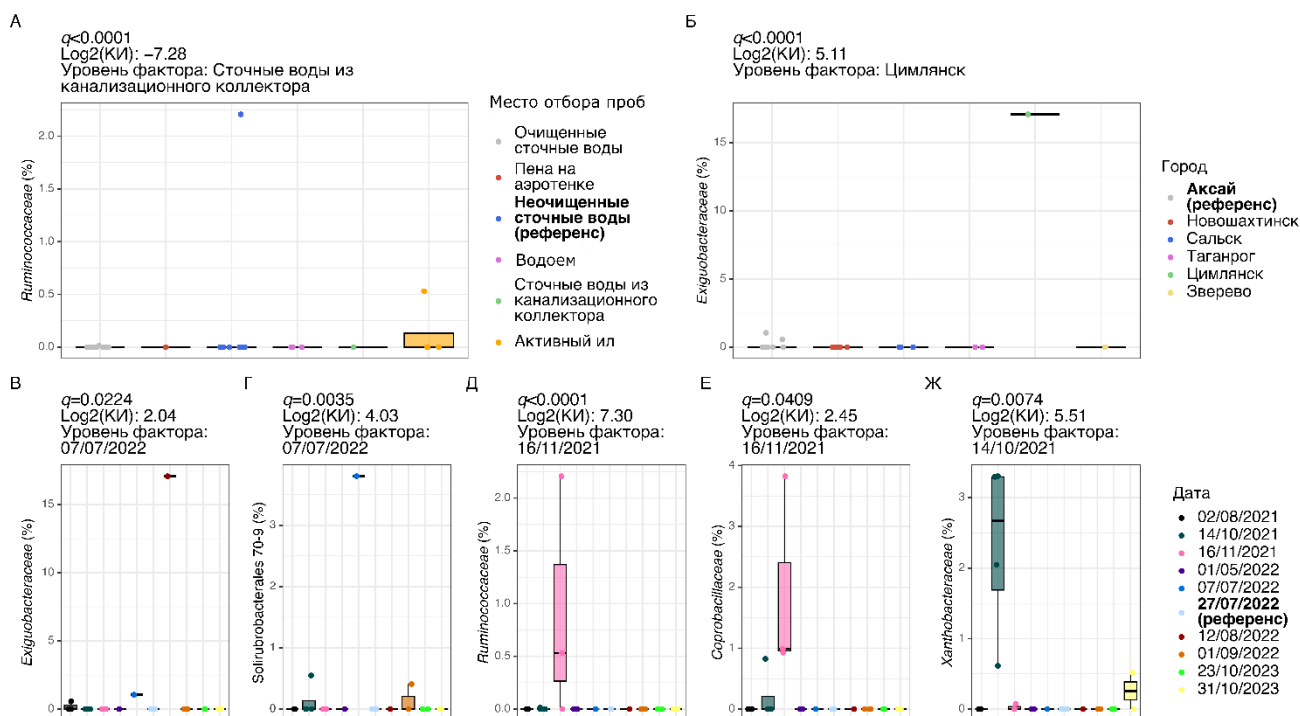


Приложение Е. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге вида с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.



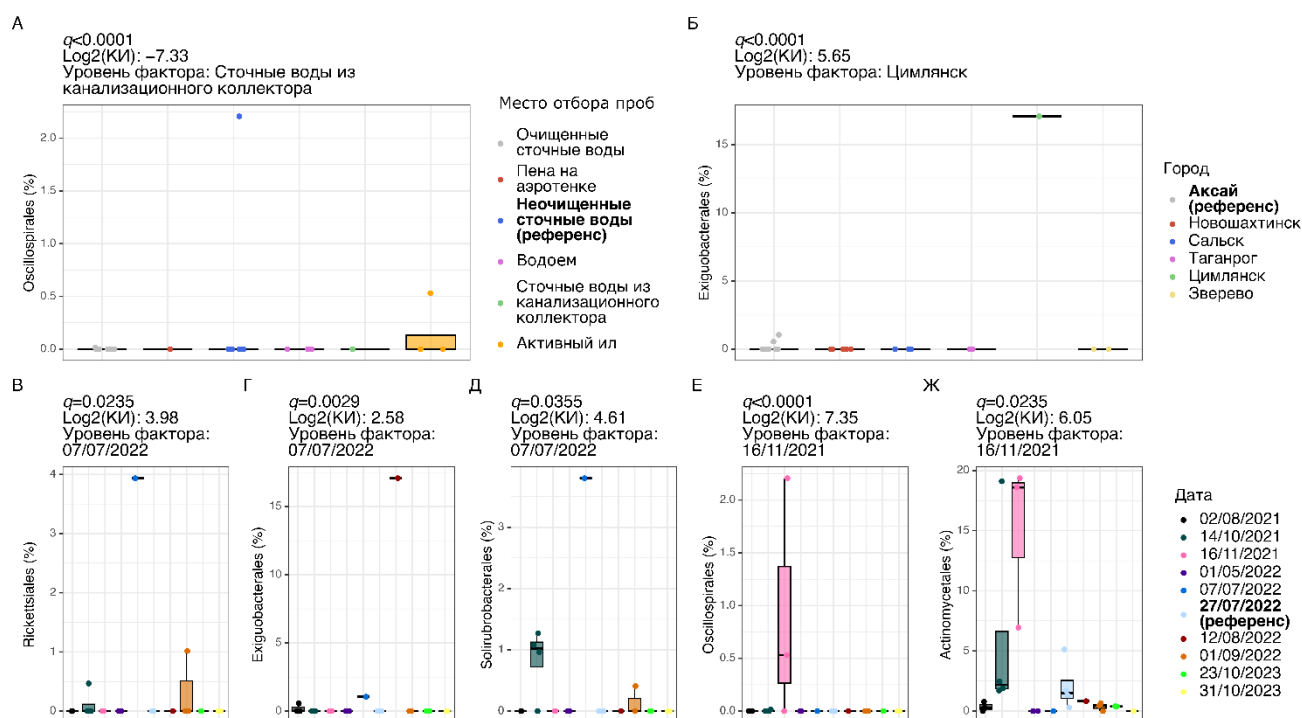
Примечание – относительная численность при $q < 0,05$, в различных сайтах (А-Б), городах (В-Г) и датах отбора проб (Д-И). На диаграммах размаха показаны медиана, межквартильный размах и значения отдельных образцов; цвет обозначает категории биотопа, города или даты отбора проб. Указанный на каждом графике уровень фактора соответствует конкретной категории исследуемого фактора, для которой выявлена значимая ассоциация относительно референтной категории. Референтные категории выделены полужирным шрифтом в условных обозначениях.

Приложение Ж. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге семейства с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.



Примечание – относительная численность при $q < 0,05$, в различных сайтах (А), городах (Б) и датах отбора проб (В-Ж). На диаграммах размаха показаны медиана, межквартильный размах и значения отдельных образцов; цвет обозначает категории мест, города или даты отбора проб.

Приложение II. Относительная численность бактериальных таксонов на ранге порядка с дифференциальной представленностью, выявленных методом MaAsLin2.



Примечание – относительная численность при $q < 0,05$ в различных сайтах (А), городах (Б) и датах отбора проб (В-Ж). На диаграммах размаха показаны медиана, межквартильный размах и значения отдельных образцов.

**Приложение К. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в микробиомах проб воды очистных сооружений
канализации (копий генов/16SpPHK)**

№ пробы	<i>intI1</i>	<i>intI2</i>	<i>intI3</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>bla_{VIM}</i>	<i>mecA</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
1	4,25×10 ⁻⁴	7,63×10 ⁻⁶	4,09×10 ⁻⁶	2,13×10 ⁻⁴	1,53×10 ⁻⁵	4,56×10 ⁻⁴	1,75×10 ⁻⁵	1,28×10 ⁻⁷	7,75×10 ⁻⁷	4,63×10 ⁻⁵	2,24×10 ⁻³	1,53×10 ⁻⁵	2,58×10 ⁻³	2,62×10 ⁻⁴	2,72×10 ⁻²
2	2,44×10 ⁻⁴	4,56×10 ⁻⁴	4,7×10 ⁻⁶	4,88×10 ⁻⁴	8,18×10 ⁻⁶	2,13×10 ⁻⁴	4,25×10 ⁻⁴	3,87×10 ⁻⁷	8,9×10 ⁻⁷	3,05×10 ⁻⁵	3,64×10 ⁻³	1,64×10 ⁻⁵	1,48×10 ⁻³	3,01×10 ⁻⁴	2,76×10 ⁻³
3	7,63×10 ⁻⁶			1,14×10 ⁻⁴		7,93×10 ⁻⁴	2,89×10 ⁻⁶	5,87×10 ⁻⁷	4,15×10 ⁻⁷	5,48×10 ⁻⁷	3,27×10 ⁻⁵	1,11×10 ⁻⁷	7,75×10 ⁻⁷	4,03×10 ⁻⁵	2,48×10 ⁻⁵
4	1,56×10 ⁻²	1,29×10 ⁻³	4,88×10 ⁻⁴	4,49×10 ⁻³	3,97×10 ⁻⁴	6,1×10 ⁻⁵	2,09×10 ⁻³	4,7×10 ⁻⁶	1,55×10 ⁻⁶	3,81×10 ⁻⁶	8,37×10 ⁻³	6,01×10 ⁻⁴	1,18×10 ⁻²	4,49×10 ⁻³	3,35×10 ⁻²
5	5,74×10 ⁻¹	1,07×10 ⁰	7,81×10 ⁻³	8,84×10 ⁻²	1,34×10 ⁻¹	1,18×10 ⁻²	2,92×10 ⁻²	7,4×10 ⁻⁴	2,62×10 ⁻⁴	3,01×10 ⁻⁴	4,42×10 ⁻²	4,49×10 ⁻³	1,48×10 ⁻³	9,47×10 ⁻²	1,34×10 ⁻¹
6	1,82×10 ⁻³	9,03×10 ⁻⁸	2,31×10 ⁻⁵	4,25×10 ⁻⁴	6,29×10 ⁻⁷	1,61×10 ⁻⁴	2,01×10 ⁻⁵	5,87×10 ⁻⁷	1,91×10 ⁻⁶	3,81×10 ⁻⁶	8,63×10 ⁻⁵	1,14×10 ⁻⁴	4,12×10 ⁻²	2,13×10 ⁻⁴	4,49×10 ⁻³
7	7,29×10 ⁻³	6,44×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴	2,62×10 ⁻⁴	1,11×10 ⁻⁷	6,64×10 ⁻⁶	8,18×10 ⁻⁶	2,56×10 ⁻⁷	3,15×10 ⁻⁷	1,02×10 ⁻⁶	4,49×10 ⁻³	1,5×10 ⁻⁴	5,52×10 ⁻³	8,5×10 ⁻⁴	4,74×10 ⁻²
8	6,01×10 ⁻⁴	2,01×10 ⁻⁵	2,04×10 ⁻⁶	5,61×10 ⁻⁴	5,78×10 ⁻⁶	1,4×10 ⁻⁴	3,05×10 ⁻⁵	7,75×10 ⁻⁷	1,26×10 ⁻⁶	7,12×10 ⁻⁶	5,52×10 ⁻³	1,85×10 ⁻⁴	2,06×10 ⁻²	2,44×10 ⁻⁴	9,62×10 ⁻³
9	1,29×10 ⁻³	1,03×10 ⁻²	5,69×10 ⁻⁵	1,05×10 ⁻³	1,17×10 ⁻⁶	4,38×10 ⁻⁶	8,18×10 ⁻⁶	4,77×10 ⁻⁷	3,61×10 ⁻⁷	4,09×10 ⁻⁶	1,31×10 ⁻⁴	2,85×10 ⁻⁵	1,7×10 ⁻³	3,7×10 ⁻⁴	7,93×10 ⁻⁴
10	1,05×10 ⁻³	2,19×10 ⁻⁶	8,63×10 ⁻⁵	1,5×10 ⁻⁴		1,35×10 ⁻⁶	1,78×10 ⁻⁶	6,29×10 ⁻⁷	5,48×10 ⁻⁷	1,55×10 ⁻⁶	5,15×10 ⁻³	6,1×10 ⁻⁵	1,7×10 ⁻³	1,38×10 ⁻³	3,91×10 ⁻³
11	6,91×10 ⁻⁴	1,66×10 ⁻⁶	4,03×10 ⁻⁵	3,7×10 ⁻⁴		7,23×10 ⁻⁷	8,18×10 ⁻⁶	2,08×10 ⁻⁷	2,94×10 ⁻⁷	4,15×10 ⁻⁷	1,12×10 ⁻³	2,85×10 ⁻⁵	1,82×10 ⁻³	6,91×10 ⁻⁴	2,4×10 ⁻³
12	7,29×10 ⁻³	2,74×10 ⁻⁷	1,75×10 ⁻⁵	5,23×10 ⁻⁴	2,04×10 ⁻⁶	1,33×10 ⁻⁵	4,63×10 ⁻⁵	1,81×10 ⁻⁷	1,45×10 ⁻⁶	1,91×10 ⁻⁶	1,95×10 ⁻³	9,92×10 ⁻⁵	6,8×10 ⁻³	4,88×10 ⁻⁴	9,62×10 ⁻³
13	1,95×10 ⁻³	1,06×10 ⁻⁴	9,11×10 ⁻⁴	1,95×10 ⁻³	4,7×10 ⁻⁶	4,03×10 ⁻⁵	7,01×10 ⁻⁵	2,94×10 ⁻⁷	5,03×10 ⁻⁶	4,38×10 ⁻⁶	8,37×10 ⁻³	3,51×10 ⁻⁵	9,11×10 ⁻⁴	7,4×10 ⁻⁴	1,7×10 ⁻³
14	3,64×10 ⁻³	2,31×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵	2,13×10 ⁻⁴		1,35×10 ⁻⁶	6,91×10 ⁻⁴	1,1×10 ⁻⁶	1,78×10 ⁻⁶	8,9×10 ⁻⁷	1,03×10 ⁻²	1,38×10 ⁻³	1,67×10 ⁻²	2,4×10 ⁻³	1,48×10 ⁻³
15	6,35×10 ⁻³	3,45×10 ⁻⁴	7,63×10 ⁻⁶	2,85×10 ⁻⁵	5,48×10 ⁻⁷	6,74×10 ⁻⁷	4,63×10 ⁻⁵	9,54×10 ⁻⁷	2,19×10 ⁻⁶	8,9×10 ⁻⁷	2,4×10 ⁻³	2,24×10 ⁻³	4,81×10 ⁻³	3,01×10 ⁻⁴	3,35×10 ⁻²
16	4,77×10 ⁻⁷		1,88×10 ⁻⁵	1,64×10 ⁻⁵	2,01×10 ⁻⁵	1,78×10 ⁻⁶	1,04×10 ⁻⁷	5,39×10 ⁻⁶		8,9×10 ⁻⁷	2,96×10 ⁻³	2,85×10 ⁻⁵	1,36×10 ⁻²	5,23×10 ⁻⁴	3,51×10 ⁻⁵
17	9,77×10 ⁻⁴	6,91×10 ⁻⁴	2,31×10 ⁻⁵		1,22×10 ⁻⁴	1,31×10 ⁻⁴	9,92×10 ⁻⁵	1,17×10 ⁻⁶	1,55×10 ⁻⁶	8,76×10 ⁻⁶	3,91×10 ⁻³	1,22×10 ⁻⁴	1,46×10 ⁻²	1,82×10 ⁻³	4,81×10 ⁻³
18	4,81×10 ⁻³	6,44×10 ⁻⁴	1,75×10 ⁻⁵	7,01×10 ⁻⁵		3,51×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵	8,76×10 ⁻⁶	6,2×10 ⁻⁶	1,45×10 ⁻⁶	1,56×10 ⁻²	1,56×10 ⁻²	2,33×10 ⁻¹	5,23×10 ⁻⁴	1,27×10 ⁻²
19	2,4×10 ⁻³	2,44×10 ⁻⁴	1,33×10 ⁻⁵	2,24×10 ⁻³		2,19×10 ⁻⁶	3,32×10 ⁻⁶	1,75×10 ⁻⁵	1,81×10 ⁻⁷	1,17×10 ⁻⁶	1,48×10 ⁻³	2,92×10 ⁻²	1,54×10 ⁻¹	1,05×10 ⁻³	2,58×10 ⁻³
20	2,09×10 ⁻³	2,96×10 ⁻³	4,32×10 ⁻⁵	5,69×10 ⁻⁵	2,38×10 ⁻⁷	3,17×10 ⁻³	1,64×10 ⁻⁵	1,01×10 ⁻⁵	2,19×10 ⁻⁶	9,54×10 ⁻⁷	1,46×10 ⁻²	2,96×10 ⁻³	8,25×10 ⁻²	6,91×10 ⁻⁴	7,81×10 ⁻³
21	3,12×10 ⁻²	3,51×10 ⁻⁵	1,38×10 ⁻³	3,7×10 ⁻⁴	7,12×10 ⁻⁶	4,96×10 ⁻⁵	8,18×10 ⁻⁶	9,25×10 ⁻⁵	5,03×10 ⁻⁶	6,54×10 ⁻⁵	3,17×10 ⁻³	2,37×10 ⁻²	1,08×10 ⁻⁵	6,54×10 ⁻⁵	4,88×10 ⁻⁴
22	5,83×10 ⁻²	4,88×10 ⁻⁴	1,79×10 ⁻²	3,51×10 ⁻⁵		1,88×10 ⁻⁵	4,77×10 ⁻⁷	6,1×10 ⁻⁵		7,01×10 ⁻⁵	7,81×10 ⁻³	2,28×10 ⁻⁴	4,03×10 ⁻⁵		4,25×10 ⁻⁴
23	1,1×10 ⁻²		4,49×10 ⁻³	1,53×10 ⁻⁵		5,78×10 ⁻⁶	1,45×10 ⁻⁶	1,75×10 ⁻⁵	2,08×10 ⁻⁷	3,76×10 ⁻⁵	2,06×10 ⁻²	1,98×10 ⁻⁴	3,27×10 ⁻⁵	3,76×10 ⁻⁵	5,92×10 ⁻³
24	7,18×10 ⁻²	3,35×10 ⁻²	1,03×10 ⁻²	3,7×10 ⁻⁴		1,33×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵	9,39×10 ⁻⁶	3,81×10 ⁻⁶	2,28×10 ⁻⁴	8,37×10 ⁻³	3,13×10 ⁻²		1,5×10 ⁻⁴	3,97×10 ⁻⁴
25	6,8×10 ⁻³	5,03×10 ⁻⁶	1,31×10 ⁻⁴		5,31×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵	9,92×10 ⁻⁵	4,09×10 ⁻⁶	5,78×10 ⁻⁶	1,16×10 ⁻⁵	2,76×10 ⁻³	1,75×10 ⁻⁵	1,08×10 ⁻⁵	4,56×10 ⁻⁴	4,81×10 ⁻³

Приложение Л. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов проб воды очистных сооружений канализации (копий генов/16SpPHK)

№ Штамма	Вид	<i>intI1</i>	<i>intI2</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaNDM</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaVIM</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
1	<i>S. enterica</i>	1,35×10 ⁻⁶		1,66×10 ⁻⁶						1,91×10 ⁻⁶		6,85×10 ⁻⁸	9,68×10 ⁻⁸	3,27×10 ⁻⁵
2	<i>S. enterica</i>	8,9×10 ⁻⁷	4,77×10 ⁻⁷	1,08×10 ⁻⁵			1,74×10 ⁻⁹			3,32×10 ⁻⁶	2,52×10 ⁻⁶	3,37×10 ⁻⁷	2,94×10 ⁻⁷	4,63×10 ⁻⁵
3	<i>S. enterica</i>	3,81×10 ⁻⁶	3,1×10 ⁻⁶	1,75×10 ⁻⁵			9,17×10 ⁻⁹				3,1×10 ⁻⁶	2,22×10 ⁻⁷	1,57×10 ⁻⁷	2,48×10 ⁻⁵
4	<i>S. enterica</i>	2,89×10 ⁻⁶		4,32×10 ⁻⁵						3,56×10 ⁻⁶	4,7×10 ⁻⁶	1,35×10 ⁻⁶	9,54×10 ⁻⁷	7,51×10 ⁻⁵
5	<i>S. enterica</i>			3,27×10 ⁻⁵						2,04×10 ⁻⁶	2,19×10 ⁻⁶	9,03×10 ⁻⁸	1,69×10 ⁻⁷	1,14×10 ⁻⁴
6	<i>S. enterica</i>	6,25×10 ⁻²	5,08×10 ⁻²	8,18×10 ⁻⁶						3,81×10 ⁻⁶		2,22×10 ⁻⁷	4,15×10 ⁻⁷	5,08×10 ⁻²
7	<i>S. enterica</i>	5,78×10 ⁻⁶	4,38×10 ⁻⁶	5,31×10 ⁻⁵						2,7×10 ⁻⁶	2,19×10 ⁻⁶	2,56×10 ⁻⁷	2,94×10 ⁻⁷	8,05×10 ⁻⁵
8	<i>S. enterica</i>	9,54×10 ⁻⁷		3,51×10 ⁻⁵			2,29×10 ⁻⁹			3,32×10 ⁻⁶	6,64×10 ⁻⁶	3,61×10 ⁻⁷	5,11×10 ⁻⁷	1,75×10 ⁻⁵
9	<i>S. enterica</i>	1,45×10 ⁻⁶	5,87×10 ⁻⁷	3,05×10 ⁻⁵						2,19×10 ⁻⁶	2,35×10 ⁻⁶	2,22×10 ⁻⁷	3,15×10 ⁻⁷	7,01×10 ⁻⁵
10	<i>S. enterica</i>			1,64×10 ⁻⁵							2,04×10 ⁻⁶	9,68×10 ⁻⁸	3,87×10 ⁻⁷	8,05×10 ⁻⁵
11	<i>S. enterica</i>	6,25×10 ⁻²	4,74×10 ⁻²	1,53×10 ⁻⁵			1,15×10 ⁻⁹			6,2×10 ⁻⁶		4,15×10 ⁻⁷	4,15×10 ⁻⁷	3,85×10 ⁻²
12	<i>S. enterica</i>	1,16×10 ⁻⁵	8,76×10 ⁻⁶	1,01×10 ⁻⁵						3,1×10 ⁻⁶	2,04×10 ⁻⁶	6,85×10 ⁻⁸	2,94×10 ⁻⁷	1,98×10 ⁻⁴
13	<i>S. enterica</i>	7,18×10 ⁻²	6,25×10 ⁻²	1,01×10 ⁻⁵						3,81×10 ⁻⁶		3,61×10 ⁻⁷	4,15×10 ⁻⁷	6,25×10 ⁻²
14	<i>S. enterica</i>	1,35×10 ⁻⁶	1,02×10 ⁻⁶	2,16×10 ⁻⁵			2×10 ⁻⁹				2,52×10 ⁻⁶	9,03×10 ⁻⁸	6,29×10 ⁻⁷	1,73×10 ⁻⁴
15	<i>S. enterica</i>	2,35×10 ⁻⁶	1,55×10 ⁻⁶	1,33×10 ⁻⁵							2,19×10 ⁻⁶	1,04×10 ⁻⁷	4,45×10 ⁻⁷	9,25×10 ⁻⁵
16	<i>S. enterica</i>	1,26×10 ⁻⁶		3,32×10 ⁻⁶			5,27×10 ⁻⁹			2,19×10 ⁻⁶	4,09×10 ⁻⁶	3,37×10 ⁻⁷	5,48×10 ⁻⁷	9,39×10 ⁻⁶
17	<i>S. enterica</i>	1,55×10 ⁻⁶	5,11×10 ⁻⁷	4,03×10 ⁻⁵						2,7×10 ⁻⁶	2,52×10 ⁻⁶	7,23×10 ⁻⁷	5,48×10 ⁻⁷	9,25×10 ⁻⁵
18	<i>E. faecalis</i>	2,19×10 ⁻⁶		1,91×10 ⁻⁶			1,04×10 ⁻⁷			1,78×10 ⁻⁶		3,87×10 ⁻⁷	3,87×10 ⁻⁷	1,64×10 ⁻⁵
19	<i>E. faecalis</i>	5,11×10 ⁻⁷		4,15×10 ⁻⁷							8,3×10 ⁻⁷	5,11×10 ⁻⁷	1,11×10 ⁻⁷	3,32×10 ⁻⁶
20	<i>E. faecalis</i>	1,17×10 ⁻⁶	5,11×10 ⁻⁷	5,48×10 ⁻⁷						5,87×10 ⁻⁷		1,91×10 ⁻⁶	4,15×10 ⁻⁷	7,75×10 ⁻⁷
21	<i>E. faecalis</i>	9,54×10 ⁻⁷	4,45×10 ⁻⁷	2,94×10 ⁻⁷			5,73×10 ⁻¹⁰			4,45×10 ⁻⁷		1,4×10 ⁻⁴	1,19×10 ⁻⁷	6,74×10 ⁻⁷
22	<i>E. faecalis</i>	1,1×10 ⁻⁶	3,87×10 ⁻⁷	1,91×10 ⁻⁶		1,04×10 ⁻⁷	2,46×10 ⁻⁹			4,45×10 ⁻⁷		2,38×10 ⁻⁷		9,54×10 ⁻⁷
23	<i>E. faecium</i>			1,66×10 ⁻⁶		9,03×10 ⁻⁸						1,04×10 ⁻⁷		5,19×10 ⁻⁸
24	<i>E. casseliflavus</i>			5,96×10 ⁻⁸			1,83×10 ⁻⁸				3,91×10 ⁻³	4,52×10 ⁻⁸		3,81×10 ⁻⁶
25	<i>E. faecium</i>												1,66×10 ⁻⁶	2,98×10 ⁻⁸
26	<i>E. cloacae</i>			7,12×10 ⁻⁶			1,07×10 ⁻⁹			2,04×10 ⁻⁶	1,91×10 ⁻⁶	5,19×10 ⁻⁸	2,08×10 ⁻⁷	5,69×10 ⁻⁵

27	<i>E. cloaceae</i>			$6,64 \times 10^{-6}$			$1,07 \times 10^{-9}$			$5,69 \times 10^{-5}$	$8,76 \times 10^{-6}$		$1,78 \times 10^{-6}$	$3,05 \times 10^{-5}$
28	<i>C. freundii</i>	$6,29 \times 10^{-7}$		$1,08 \times 10^{-5}$		$3,19 \times 10^{-8}$	$2,78 \times 10^{-8}$		$1,69 \times 10^{-7}$	$7,12 \times 10^{-6}$	$4,09 \times 10^{-6}$	$1,37 \times 10^{-7}$	$1,94 \times 10^{-7}$	$3,32 \times 10^{-6}$
29	<i>E. coli</i>			$4,42 \times 10^{-2}$			$5,96 \times 10^{-8}$	$4,84 \times 10^{-8}$	$3,61 \times 10^{-7}$	$2,19 \times 10^{-6}$	$2,4 \times 10^{-3}$	$8,25 \times 10^{-2}$	$7,69 \times 10^{-2}$	$4,7 \times 10^{-6}$
30	<i>C. freundii</i>	$5,48 \times 10^{-7}$		$1,1 \times 10^{-6}$		$2,98 \times 10^{-8}$	$7,99 \times 10^{-9}$		$1,47 \times 10^{-7}$	$1,33 \times 10^{-5}$	$8,18 \times 10^{-6}$	$3,87 \times 10^{-7}$	$8,3 \times 10^{-7}$	$1,42 \times 10^{-5}$
31	<i>E. coli</i>	$8,3 \times 10^{-7}$		$1,53 \times 10^{-5}$			$3,67 \times 10^{-8}$			$5,78 \times 10^{-6}$	$2,48 \times 10^{-5}$	$1,81 \times 10^{-7}$	$7,75 \times 10^{-7}$	$2,52 \times 10^{-6}$
32	<i>E. coli</i>	$6,7 \times 10^{-2}$		$2,21 \times 10^{-2}$			$1,37 \times 10^{-7}$			$3,35 \times 10^{-2}$	$4,63 \times 10^{-5}$	$6,74 \times 10^{-7}$	$8,3 \times 10^{-7}$	$5,83 \times 10^{-2}$
33	<i>E. faecalis</i>													$6,29 \times 10^{-7}$
34	<i>E. faecalis</i>					$1,83 \times 10^{-8}$								$4,21 \times 10^{-8}$
35	<i>E. faecium</i>			$3,93 \times 10^{-8}$		$1,57 \times 10^{-7}$	$1,32 \times 10^{-9}$					$1,94 \times 10^{-7}$		$9,68 \times 10^{-8}$
36	<i>E. faecium</i>						$5,65 \times 10^{-9}$					$6,74 \times 10^{-7}$		$1,69 \times 10^{-7}$
37	<i>E. faecalis</i>			$3,67 \times 10^{-8}$	$4,84 \times 10^{-8}$	$1,69 \times 10^{-7}$						$7,86 \times 10^{-8}$		$8,43 \times 10^{-8}$
38	<i>E. faecalis</i>			$4,45 \times 10^{-7}$			$2,94 \times 10^{-7}$				$1,01 \times 10^{-5}$		$2,38 \times 10^{-7}$	$1,33 \times 10^{-5}$
39	<i>E. faecium</i>			$1,49 \times 10^{-8}$			$2,63 \times 10^{-9}$			$4,38 \times 10^{-6}$		$5,56 \times 10^{-8}$	$4,21 \times 10^{-8}$	$1,19 \times 10^{-7}$
40	<i>E. cloaceae</i>			$6,44 \times 10^{-4}$			$1,78 \times 10^{-6}$			$5,78 \times 10^{-6}$	$3,81 \times 10^{-6}$		$2,89 \times 10^{-6}$	$9,39 \times 10^{-6}$
41	<i>E. faecalis</i>					$1,04 \times 10^{-7}$	$6,05 \times 10^{-9}$					$1,37 \times 10^{-7}$		$1,28 \times 10^{-7}$
42	<i>P. aeruginosa</i>	$4,03 \times 10^{-5}$		$6,1 \times 10^{-5}$			$5,87 \times 10^{-7}$			$1,5 \times 10^{-4}$	$1,14 \times 10^{-4}$			$1,88 \times 10^{-5}$
43	<i>P. aeruginosa</i>			$2,31 \times 10^{-5}$						$3,76 \times 10^{-5}$	$2,85 \times 10^{-5}$			$2,19 \times 10^{-6}$
44	<i>P. aeruginosa</i>			$4,63 \times 10^{-5}$		$2,7 \times 10^{-6}$	$4,77 \times 10^{-7}$			$6,54 \times 10^{-5}$	$7,01 \times 10^{-5}$			$1,64 \times 10^{-5}$
45	<i>P. aeruginosa</i>			$6,54 \times 10^{-5}$			$4,77 \times 10^{-7}$			$1,98 \times 10^{-4}$	$1,14 \times 10^{-4}$			$2,48 \times 10^{-5}$
46	<i>P. aeruginosa</i>			$1,06 \times 10^{-4}$			$7,75 \times 10^{-7}$							$7,63 \times 10^{-6}$
47	<i>P. aeruginosa</i>			$1,01 \times 10^{-5}$			$1,3 \times 10^{-8}$			$1,22 \times 10^{-4}$	$3,76 \times 10^{-5}$			$1,69 \times 10^{-7}$
48	<i>P. aeruginosa</i>			$1,06 \times 10^{-4}$		$2,19 \times 10^{-6}$	$4,15 \times 10^{-7}$				$1,4 \times 10^{-4}$			$1,75 \times 10^{-5}$

**Приложение М. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон и Темерник в акватории г.
Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK)**

№ Пробы	<i>intI1</i>	<i>intI2</i>	<i>intI3</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaNDM</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaVIM</i>	<i>mecA</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
26	3,97×10 ⁻⁴		3,01×10 ⁻⁴	3,01×10 ⁻⁴	3,1×10 ⁻⁶	6,64×10 ⁻⁶	1,01×10 ⁻⁵	4,09×10 ⁻⁶	1,35×10 ⁻⁶		8,05×10 ⁻⁵	1,5×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴	2,62×10 ⁻⁴	1,59×10 ⁻³
27	1,12×10 ⁻³			1,38×10 ⁻³	7,01×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	3,76×10 ⁻⁵	1,31×10 ⁻⁴			1,22×10 ⁻⁴	4,19×10 ⁻³	5,52×10 ⁻³		3,91×10 ⁻³
28	1,27×10 ⁻²		7,81×10 ⁻³	1,1×10 ⁻²	3,01×10 ⁻⁴	1,31×10 ⁻⁴	2,8×10 ⁻⁴	2,28×10 ⁻⁴			1,29×10 ⁻³	9,62×10 ⁻³	1,56×10 ⁻²	6,8×10 ⁻³	4,74×10 ⁻²
29	4,88×10 ⁻⁴		1,85×10 ⁻⁴	1,12×10 ⁻³	4,32×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵	2,31×10 ⁻⁵	6,64×10 ⁻⁶			4,32×10 ⁻⁵	6,91×10 ⁻⁴	7,4×10 ⁻⁴	4,56×10 ⁻⁴	2,76×10 ⁻³
30	1,5×10 ⁻⁴		5,23×10 ⁻⁴	2,58×10 ⁻³	2,66×10 ⁻⁵	3,97×10 ⁻⁴	5,69×10 ⁻⁵	1,16×10 ⁻⁵			6,54×10 ⁻⁵	2,48×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	7,4×10 ⁻⁴	3,91×10 ⁻³
31	3,45×10 ⁻⁴			4,49×10 ⁻³	3,01×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³	8,05×10 ⁻⁵				9,25×10 ⁻⁵	3,4×10 ⁻³	1,38×10 ⁻³	3,91×10 ⁻³	8,37×10 ⁻³
32	4,88×10 ⁻⁴			1,38×10 ⁻³	4,96×10 ⁻⁵		2,85×10 ⁻⁵				1,14×10 ⁻⁴	4,49×10 ⁻³	3,17×10 ⁻³		3,91×10 ⁻³
33	5,61×10 ⁻⁴		9,11×10 ⁻⁴	2,09×10 ⁻³	2,16×10 ⁻⁵	3,01×10 ⁻⁴	4,63×10 ⁻⁵	2,31×10 ⁻⁵			1,31×10 ⁻⁴	2,58×10 ⁻³	2,4×10 ⁻³	1,2×10 ⁻³	5,15×10 ⁻³
34	8,63×10 ⁻⁵		1,31×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴	6,64×10 ⁻⁶	2,31×10 ⁻⁵	9,39×10 ⁻⁶	5,78×10 ⁻⁶			4,63×10 ⁻⁵	3,7×10 ⁻⁴	2,28×10 ⁻⁴	6,44×10 ⁻⁴	7,4×10 ⁻⁴
35	1,61×10 ⁻⁴			7,93×10 ⁻⁴	3,05×10 ⁻⁵	5,69×10 ⁻⁵	3,27×10 ⁻⁵				6,1×10 ⁻⁵	9,77×10 ⁻⁴	6,01×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴	1,59×10 ⁻³
36	3,7×10 ⁻⁴			4,25×10 ⁻⁴	1,16×10 ⁻⁵	4,03×10 ⁻⁵	2,01×10 ⁻⁵	8,18×10 ⁻⁶			5,31×10 ⁻⁵	6,01×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴	1,2×10 ⁻³
37	1,06×10 ⁻⁴		1,98×10 ⁻⁴	5,23×10 ⁻⁴	2,85×10 ⁻⁵	6,54×10 ⁻⁵	1,88×10 ⁻⁵	6,2×10 ⁻⁶			3,51×10 ⁻⁵	5,23×10 ⁻⁴	1,61×10 ⁻⁴	2,28×10 ⁻⁴	3,85×10 ⁻²
38	3,51×10 ⁻⁵			1,48×10 ⁻³	1,06×10 ⁻⁴	8,63×10 ⁻⁵	7,63×10 ⁻⁶		6,64×10 ⁻⁶		1,33×10 ⁻⁵	3,97×10 ⁻⁴		1,12×10 ⁻³	1,85×10 ⁻⁴
39	4,03×10 ⁻⁵			1,38×10 ⁻³	1,75×10 ⁻⁵	1,91×10 ⁻⁶	4,38×10 ⁻⁶		5,03×10 ⁻⁶	1,64×10 ⁻⁵	9,77×10 ⁻⁴	2,8×10 ⁻⁴	6,54×10 ⁻⁵	4,56×10 ⁻⁴	1,06×10 ⁻⁴
40	3,45×10 ⁻⁴			5,92×10 ⁻³	4,63×10 ⁻⁵	5,39×10 ⁻⁶	1,24×10 ⁻⁵	3,51×10 ⁻⁵	3,05×10 ⁻⁵	3,27×10 ⁻⁵	2,96×10 ⁻³	7,4×10 ⁻⁴	1,61×10 ⁻⁴	2,09×10 ⁻³	1,29×10 ⁻³
41	5,23×10 ⁻⁴			1,03×10 ⁻²	1,98×10 ⁻⁴	1,75×10 ⁻⁵	1,53×10 ⁻⁵	2,66×10 ⁻⁵	3,76×10 ⁻⁵		6,35×10 ⁻³	1,59×10 ⁻³	3,45×10 ⁻⁴	1,82×10 ⁻³	1,12×10 ⁻³
42	8,5×10 ⁻⁴		1,73×10 ⁻⁴	1,61×10 ⁻⁴	2,85×10 ⁻⁵	1,01×10 ⁻⁵	2,48×10 ⁻⁵				2,76×10 ⁻³	1,2×10 ⁻³	2,96×10 ⁻³	4,25×10 ⁻⁴	1,29×10 ⁻³
43	3,97×10 ⁻⁴			1,2×10 ⁻³	1,5×10 ⁻⁴	8,18×10 ⁻⁶	1,64×10 ⁻⁵	2,8×10 ⁻⁴			7,81×10 ⁻³	1,38×10 ⁻³	5,52×10 ⁻³	1,05×10 ⁻³	1,05×10 ⁻³
44	1,08×10 ⁻⁵				1,75×10 ⁻⁵		6,29×10 ⁻⁷	1,78×10 ⁻⁶			9,25×10 ⁻⁵	3,76×10 ⁻⁵	4,88×10 ⁻⁴	7,63×10 ⁻⁶	9,25×10 ⁻⁵
45	7,4×10 ⁻⁴		1,59×10 ⁻³	1,12×10 ⁻³	2,8×10 ⁻⁴	3,27×10 ⁻⁵	8,05×10 ⁻⁵	7,01×10 ⁻⁵			4,49×10 ⁻³	7,81×10 ⁻³	1,03×10 ⁻²	6,8×10 ⁻³	2,58×10 ⁻³
46	8,5×10 ⁻⁴		1,2×10 ⁻³	5,15×10 ⁻³	8,5×10 ⁻⁴	6,54×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	3,27×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵		7,29×10 ⁻³	6,8×10 ⁻³	8,37×10 ⁻³	3,64×10 ⁻³	2,76×10 ⁻³
47	3,05×10 ⁻⁵			7,93×10 ⁻⁴	4,63×10 ⁻⁵	2,01×10 ⁻⁵	8,18×10 ⁻⁶		1,01×10 ⁻⁵		4,32×10 ⁻⁵	4,96×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵	1,85×10 ⁻⁴	1,59×10 ⁻³
48	1,31×10 ⁻⁴			1,12×10 ⁻³	5,23×10 ⁻⁴		1,33×10 ⁻⁵				8,05×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	4,32×10 ⁻⁵		1,59×10 ⁻³
49	1,85×10 ⁻⁴			4,81×10 ⁻³	1,05×10 ⁻³	1,85×10 ⁻⁴	2,66×10 ⁻⁵				8,63×10 ⁻⁵	4,56×10 ⁻⁴	1,73×10 ⁻⁴	1,1×10 ⁻²	2,24×10 ⁻³
50	8,63×10 ⁻⁵			1,95×10 ⁻³	7,51×10 ⁻⁵	2,62×10 ⁻⁴	1,33×10 ⁻⁵				6,1×10 ⁻⁵	3,97×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴	1,12×10 ⁻³	2,58×10 ⁻³
51	1,06×10 ⁻⁴			2,58×10 ⁻³	5,69×10 ⁻⁵	2,44×10 ⁻⁴	2,85×10 ⁻⁵	2,31×10 ⁻⁵			1,5×10 ⁻⁴	6,91×10 ⁻⁴	1,14×10 ⁻⁴	6,91×10 ⁻⁴	2,76×10 ⁻³
52	3,01×10 ⁻⁴			2,96×10 ⁻³	4,96×10 ⁻⁵	2,62×10 ⁻⁴	4,32×10 ⁻⁵	2,66×10 ⁻⁵			2,13×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³	1,14×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³	3,91×10 ⁻³

53	$6,01 \times 10^{-4}$			$2,4 \times 10^{-3}$	$8,63 \times 10^{-5}$	$6,54 \times 10^{-5}$	$2,85 \times 10^{-5}$				$2,28 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^{-3}$	$2,24 \times 10^{-3}$	$1,48 \times 10^{-3}$	$5,15 \times 10^{-3}$
54	$6,35 \times 10^{-3}$	$2,31 \times 10^{-5}$	$2,76 \times 10^{-3}$	$2,96 \times 10^{-3}$	$8,18 \times 10^{-6}$	$8,05 \times 10^{-5}$	$4,63 \times 10^{-5}$	$1,53 \times 10^{-5}$	$2,48 \times 10^{-5}$		$1,59 \times 10^{-3}$	$1,36 \times 10^{-2}$	$2,21 \times 10^{-2}$	$7,29 \times 10^{-3}$	$2,72 \times 10^{-2}$
55	$6,44 \times 10^{-4}$		$1,73 \times 10^{-4}$	$4,88 \times 10^{-4}$	$1,88 \times 10^{-5}$	$7,51 \times 10^{-5}$	$1,53 \times 10^{-5}$				$1,98 \times 10^{-4}$	$2,8 \times 10^{-4}$	$7,93 \times 10^{-4}$	$5,61 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-3}$
56	$3,4 \times 10^{-3}$		$6,44 \times 10^{-4}$	$2,13 \times 10^{-4}$	$1,75 \times 10^{-5}$	$3,05 \times 10^{-5}$	$3,56 \times 10^{-6}$	$2,31 \times 10^{-5}$			$1,48 \times 10^{-3}$	$9,77 \times 10^{-4}$	$8,97 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-3}$	$7,29 \times 10^{-3}$

Приложение Н. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону (копий генов/16SpPHK).

№ Штамма	Вид	<i>intI1</i>	<i>intI2</i>	<i>intI3</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>bla_{VIM}</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
49	<i>K. pneumoniae</i>	4,09×10 ⁻⁶			7,93×10 ⁻⁴	1,75×10 ⁻⁵	5,03×10 ⁻⁶	1,48×10 ⁻³		1,75×10 ⁻⁵	8,76×10 ⁻⁶	2,13×10 ⁻⁴		5,52×10 ⁻³	1,73×10 ⁻⁴
50	<i>K. pneumoniae</i>	6,2×10 ⁻⁶			1,1×10 ⁻²	1,42×10 ⁻⁵	7,63×10 ⁻⁶	9,54×10 ⁻⁷		1,42×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴		1,48×10 ⁻³	7,4×10 ⁻⁴
51	<i>P.aeruginosa</i>				2,96×10 ⁻³	2,48×10 ⁻⁵	6,64×10 ⁻⁶	1,17×10 ⁻⁶		7,51×10 ⁻⁵	1,33×10 ⁻⁵	5,69×10 ⁻⁵		1,2×10 ⁻³	4,63×10 ⁻⁵
52	<i>P.aeruginosa</i>				1,29×10 ⁻³					1,53×10 ⁻⁵	2,48×10 ⁻⁵			3,7×10 ⁻⁴	1,14×10 ⁻⁴
53	<i>P.aeruginosa</i>				8,37×10 ⁻³	2,66×10 ⁻⁵	1,16×10 ⁻⁵	1,02×10 ⁻⁶		8,76×10 ⁻⁶	1,33×10 ⁻⁵	2,85×10 ⁻⁵		1,95×10 ⁻³	8,05×10 ⁻⁵
54	<i>E.coli</i>	2,86×10 ⁻⁶				8,76×10 ⁻⁶	7,63×10 ⁻⁶	3,3×10 ⁻⁸					1,28×10 ⁻⁵		3,4×10 ⁻⁷
55	<i>C. braaki</i>	6,79×10 ⁻⁷		1,29×10 ⁻⁶	3,05×10 ⁻⁵	2,87×10 ⁻¹		9,37×10 ⁻⁷	3,97×10 ⁻⁷	1,18×10 ⁻²	3,77×10 ⁻⁶	4,65×10 ⁻⁶	1,51×10 ⁻⁸	5,69×10 ⁻⁵	2,51×10 ⁻⁶
56	<i>E.coli</i>	1,78×10 ⁻⁶		9,19×10 ⁻⁷	2,19×10 ⁻⁶	5,69×10 ⁻⁵	1,75×10 ⁻⁵	1,69×10 ⁻⁷	6,39×10 ⁻⁸	2,09×10 ⁻³	3,28×10 ⁻⁷	3,05×10 ⁻⁶	2,1×10 ⁻⁷		4,28×10 ⁻⁷
57	<i>E.coli</i>	6,59×10 ⁻⁷			2,52×10 ⁻⁶	2,01×10 ⁻⁵		4,11×10 ⁻⁷		2,4×10 ⁻³	6,51×10 ⁻⁷	3,46×10 ⁻⁷	1,18×10 ⁻⁷		3,37×10 ⁻⁴
58	<i>E.coli</i>	1,4×10 ⁻⁵		2,88×10 ⁻⁷		2,28×10 ⁻⁴	1,64×10 ⁻⁵	2,43×10 ⁻⁷		1,29×10 ⁻³	2,55×10 ⁻⁷	1,04×10 ⁻⁶	4,23×10 ⁻⁷		3,87×10 ⁻⁴
59	<i>E.coli</i>	4,52×10 ⁻⁵	2,46×10 ⁻⁸	8,6×10 ⁻⁷	3,97×10 ⁻⁴	1,5×10 ⁻⁴	3,1×10 ⁻⁶	1,42×10 ⁻⁶		1,92×10 ⁻²	9,75×10 ⁻⁷	3,57×10 ⁻⁶	9,27×10 ⁻⁸	1,01×10 ⁻⁵	3,27×10 ⁻⁶
60	<i>K. pneumoniae</i>	6,05×10 ⁻⁵		3,72×10 ⁻⁶	8,63×10 ⁻⁵		6,64×10 ⁻⁶	2×10 ⁻⁶	2,27×10 ⁻⁶	2,37×10 ⁻²	1,27×10 ⁻⁵	1,89×10 ⁻⁶	1,6×10 ⁻⁶	6,54×10 ⁻⁵	1,31×10 ⁻⁶
61	<i>K. pneumoniae</i>	8,44×10 ⁻⁶	1,77×10 ⁻⁷	9,47×10 ⁻⁷	9,25×10 ⁻⁵	1,5×10 ⁻⁴		6,33×10 ⁻⁷	1,64×10 ⁻⁷	2,37×10 ⁻²	7,43×10 ⁻⁶	5,08×10 ⁻⁷	6,5×10 ⁻⁶		3,26×10 ⁻⁷
62	<i>P.aeruginosa</i>	9,1×10 ⁻⁶		1,9×10 ⁻⁵	4,03×10 ⁻⁵	7,51×10 ⁻⁵	4,96×10 ⁻⁵	2,04×10 ⁻⁵	9,42×10 ⁻⁶	1,61×10 ⁻⁴	5,8×10 ⁻⁴	1,58×10 ⁻³	1,07×10 ⁻⁶		6,28×10 ⁻⁴
63	<i>P.aeruginosa</i>	2,31×10 ⁻⁶		3,14×10 ⁻²	1,75×10 ⁻⁵		9,25×10 ⁻⁵	1,01×10 ⁻⁶		3,32×10 ⁻⁶	1,11×10 ⁻⁵	2,79×10 ⁻⁵	2,13×10 ⁻⁶	4,63×10 ⁻⁵	1,41×10 ⁻⁵
64	<i>P.aeruginosa</i>	4,78×10 ⁻⁶		1,31×10 ⁻⁶	7,51×10 ⁻⁵	4,32×10 ⁻⁵	7,51×10 ⁻⁵	3,93×10 ⁻⁶			3,55×10 ⁻⁵	7,88×10 ⁻⁵	3,01×10 ⁻⁶		1,12×10 ⁻⁵
65	<i>P.aeruginosa</i>	1,76×10 ⁻⁶			6,54×10 ⁻⁵		1,53×10 ⁻⁵	2,66×10 ⁻⁶		7,12×10 ⁻⁶	1,48×10 ⁻⁵	1,58×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁶		2,35×10 ⁻⁵
66	<i>P.aeruginosa</i>	9,68×10 ⁻⁵		6,05×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴	2,66×10 ⁻⁵		9,25×10 ⁻⁵		2,16×10 ⁻⁵	1,64×10 ⁻⁴	8,39×10 ⁻⁴	1,98×10 ⁻⁵		1,27×10 ⁻³
67	<i>P.aeruginosa</i>	5,03×10 ⁻⁶			1,4×10 ⁻⁴		3,27×10 ⁻⁵	6,63×10 ⁻⁷	3,8×10 ⁻⁷	7,29×10 ⁻³	4,54×10 ⁻⁵	1,26×10 ⁻⁵	1,67×10 ⁻⁶		8,46×10 ⁻⁷
68	<i>P.aeruginosa</i>	1,95×10 ⁻⁶		5,74×10 ⁻⁷	2,13×10 ⁻⁴	7,51×10 ⁻⁵		4,57×10 ⁻⁶		1,73×10 ⁻⁴	1,62×10 ⁻⁵	8,44×10 ⁻⁶	8,4×10 ⁻⁷		6,57×10 ⁻⁶
69	<i>P.aeruginosa</i>	5,55×10 ⁻⁶		1,11×10 ⁻⁶		2,89×10 ⁻⁶	1,26×10 ⁻⁶	1,26×10 ⁻⁵	5,78×10 ⁻⁷	8,63×10 ⁻⁵	7,15×10 ⁻⁵	3,13×10 ⁻⁶	1,7×10 ⁻⁶		1,25×10 ⁻⁶
70	<i>P.aeruginosa</i>	9,74×10 ⁻⁶		6,62×10 ⁻⁶	3,45×10 ⁻⁴	9,92×10 ⁻⁵	5,69×10 ⁻⁵	3,93×10 ⁻⁶		1,4×10 ⁻⁴	1,94×10 ⁻⁵	1,95×10 ⁻⁴	1,69×10 ⁻⁶		1,25×10 ⁻⁵
71	<i>P.aeruginosa</i>	3,28×10 ⁻⁶		4,85×10 ⁻⁷	6,1×10 ⁻⁵	3,32×10 ⁻⁶		2,12×10 ⁻⁶		4,49×10 ⁻³	2,45×10 ⁻⁵	3,63×10 ⁻⁵	1,67×10 ⁻⁶		4,23×10 ⁻⁶
72	<i>P.aeruginosa</i>	7,22×10 ⁻⁷			2,62×10 ⁻⁴	2,01×10 ⁻⁵		2,41×10 ⁻⁶		8,76×10 ⁻⁶	2,41×10 ⁻⁷	2,81×10 ⁻⁷	1,58×10 ⁻⁸		2,23×10 ⁻⁷

**Приложение П. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в образцах воды р. Дон в акватории г. Азова
(копий генов/16SpPHK)**

№ Пробы	<i>intI1</i>	<i>blaCTX-M</i>	<i>blaNDM</i>	<i>blaOXA-48</i>	<i>blaVIM</i>	<i>mecA</i>	<i>vanA</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
57	1,73×10 ⁻⁴		1,75×10 ⁻⁵			4,32×10 ⁻⁵		6,1×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴	7,51×10 ⁻⁵	1,06×10 ⁻⁴	4,25×10 ⁻⁴
58	2,13×10 ⁻⁴	6,44×10 ⁻⁴						7,51×10 ⁻⁵	1,31×10 ⁻⁴	8,63×10 ⁻⁵		6,44×10 ⁻⁴
59	1,14×10 ⁻⁴		2,01×10 ⁻⁵			2,01×10 ⁻⁵		5,69×10 ⁻⁵	9,92×10 ⁻⁵	7,01×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	4,56×10 ⁻⁴
60	1,5×10 ⁻⁴		1,17×10 ⁻⁶			4,7×10 ⁻⁶		1,22×10 ⁻⁴	4,63×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴		2,44×10 ⁻⁴
61	3,76×10 ⁻⁵							6,64×10 ⁻⁶	2,04×10 ⁻⁶	6,54×10 ⁻⁵		2,48×10 ⁻⁵
62	1,14×10 ⁻⁴		2,89×10 ⁻⁶					8,63×10 ⁻⁵	1,64×10 ⁻⁵	1,22×10 ⁻⁴		2,44×10 ⁻⁴
63						2,52×10 ⁻⁶		8,76×10 ⁻⁶		9,25×10 ⁻⁵		
64								2,19×10 ⁻⁶		1,75×10 ⁻⁵		
65						4,7×10 ⁻⁶		7,12×10 ⁻⁶	1,08×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴		4,09×10 ⁻⁶
66	2,13×10 ⁻⁴	4,25×10 ⁻⁴	7,01×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵				7,01×10 ⁻⁵	2,8×10 ⁻⁴	5,61×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³
67	9,92×10 ⁻⁵	6,01×10 ⁻⁴	1,22×10 ⁻⁴			1,22×10 ⁻⁴		4,96×10 ⁻⁵	2,8×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴		1,2×10 ⁻³
68	2,62×10 ⁻⁴	6,91×10 ⁻⁴	1,61×10 ⁻⁴		2,31×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵		4,32×10 ⁻⁵	5,23×10 ⁻⁴	7,93×10 ⁻⁴		1,95×10 ⁻³
69		3,17×10 ⁻³	6,01×10 ⁻⁴	5,61×10 ⁻⁴	3,76×10 ⁻⁵			1,22×10 ⁻⁴	5,23×10 ⁻⁴	9,77×10 ⁻⁴	4,81×10 ⁻³	4,49×10 ⁻³
70	4,56×10 ⁻⁴	5,23×10 ⁻⁴	1,06×10 ⁻⁴	4,63×10 ⁻⁵				4,03×10 ⁻⁵	3,7×10 ⁻⁴	4,88×10 ⁻⁴		1,82×10 ⁻³
71	6,54×10 ⁻⁵	7,93×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴	5,69×10 ⁻⁵	7,63×10 ⁻⁶			2,66×10 ⁻⁵	2,13×10 ⁻⁴	3,97×10 ⁻⁴	6,91×10 ⁻⁴	5,15×10 ⁻³
72	1,06×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³	7,01×10 ⁻⁵		2,31×10 ⁻⁵		1,42×10 ⁻⁵	8,63×10 ⁻⁵	6,54×10 ⁻⁵		9,11×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴
73	1,5×10 ⁻⁴	4,56×10 ⁻⁴	3,76×10 ⁻⁵					1,14×10 ⁻⁴	7,51×10 ⁻⁵		2,13×10 ⁻⁴	3,97×10 ⁻⁴
74	1,5×10 ⁻⁴		3,51×10 ⁻⁵					1,06×10 ⁻⁴	3,76×10 ⁻⁵	8,05×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴
75	9,25×10 ⁻⁵	8,63×10 ⁻⁵	3,27×10 ⁻⁵		5,03×10 ⁻⁶			5,61×10 ⁻⁴	7,01×10 ⁻⁵	1,98×10 ⁻⁴	3,05×10 ⁻⁵	1,85×10 ⁻⁴
76	4,96×10 ⁻⁵	3,7×10 ⁻⁴	8,05×10 ⁻⁵	1,01×10 ⁻⁵	1,24×10 ⁻⁵			2,24×10 ⁻³	9,11×10 ⁻⁴	2,16×10 ⁻⁵	4,25×10 ⁻⁴	1,85×10 ⁻⁴
77	6,54×10 ⁻⁵	1,73×10 ⁻⁴						3,76×10 ⁻⁵	5,69×10 ⁻⁵			2,28×10 ⁻⁴
78	7,51×10 ⁻⁵	4,81×10 ⁻³	1,75×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵	9,39×10 ⁻⁶			1,01×10 ⁻⁵	1,14×10 ⁻⁴	3,7×10 ⁻⁴	3,97×10 ⁻⁴	4,81×10 ⁻³
79	6,1×10 ⁻⁵	1,12×10 ⁻³	9,39×10 ⁻⁶	3,05×10 ⁻⁵	1,33×10 ⁻⁵			8,05×10 ⁻⁵	8,63×10 ⁻⁵	4,88×10 ⁻⁴	5,23×10 ⁻⁴	5,61×10 ⁻⁴
80	5,69×10 ⁻⁵	1,38×10 ⁻³	2,13×10 ⁻⁴	2,66×10 ⁻⁵				3,51×10 ⁻⁵	1,14×10 ⁻⁴	3,01×10 ⁻⁴	1,38×10 ⁻³	1,2×10 ⁻³
81	1,5×10 ⁻⁴	1,18×10 ⁻²	4,96×10 ⁻⁵					6,1×10 ⁻⁵	1,06×10 ⁻⁴	4,56×10 ⁻⁴		1,82×10 ⁻³
82		3,64×10 ⁻³		3,22×10 ⁻⁴	3,45×10 ⁻⁴			1,85×10 ⁻⁴	4,25×10 ⁻⁴	4,56×10 ⁻⁴	1,09×10 ⁻¹	4,49×10 ⁻³
83	2,28×10 ⁻⁴			3,51×10 ⁻⁵				7,51×10 ⁻⁵	9,25×10 ⁻⁵	6,91×10 ⁻⁴		2,58×10 ⁻³

**Приложение Р. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов
воды р. Дон в акватории г. Азова (копий генов/16SpPHK)**

<i>№ Штамма</i>	<i>Buð</i>	<i>intI1</i>	<i>intI2</i>	<i>intI3</i>	<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{OXA-48}</i>	<i>bla_{VIM}</i>	<i>vanA</i>	<i>vanB</i>	<i>sul2</i>	<i>tetO</i>	<i>ermB</i>	<i>mphA</i>	<i>aadA2</i>
73	<i>K. pneumoniae</i>	4,09×10 ⁻⁶			4,25×10 ⁻⁴	4,09×10 ⁻⁶	1,45×10 ⁻⁶	8,5×10 ⁻⁴		9,39×10 ⁻⁶	5,03×10 ⁻⁶	3,51×10 ⁻⁵		2,24×10 ⁻³	8,63×10 ⁻⁵
74	<i>K. pneumoniae</i>				2,4×10 ⁻³	2,31×10 ⁻⁵	1,5×10 ⁻⁴	3,01×10 ⁻⁴		1,24×10 ⁻⁵	3,05×10 ⁻⁵	4,25×10 ⁻⁴		3,91×10 ⁻³	1,56×10 ⁻²
75	<i>K. pneumoniae</i>			1,29×10 ⁻³	3,4×10 ⁻³	1,75×10 ⁻⁵	2,85×10 ⁻⁵			2,16×10 ⁻⁵	2,16×10 ⁻⁵	3,01×10 ⁻⁴		1,03×10 ⁻²	4,56×10 ⁻⁴
76	<i>K. pneumoniae</i>				4,49×10 ⁻³	1,75×10 ⁻⁵	3,56×10 ⁻⁶			4,63×10 ⁻⁵	1,75×10 ⁻⁵	2,44×10 ⁻⁴		3,17×10 ⁻³	2,44×10 ⁻⁴
77	<i>K. pneumoniae</i>	5,71×10 ⁻⁴		6,1×10 ⁻⁴	1,75×10 ⁻⁵		2,16×10 ⁻⁵	1,88×10 ⁻⁶	4,43×10 ⁻⁷	8,5×10 ⁻⁴	2,15×10 ⁻⁵	3,34×10 ⁻⁵	1,25×10 ⁻⁵	2,52×10 ⁻⁶	6,19×10 ⁻⁶
78	<i>E.coli</i>	1,66×10 ⁻⁴		2,35×10 ⁻⁵	1,01×10 ⁻⁵			3,91×10 ⁻⁶	1,44×10 ⁻⁶		3,04×10 ⁻⁵	1,36×10 ⁻⁵	3,01×10 ⁻⁷		1,62×10 ⁻³
79	<i>K. pneumoniae</i>	1,32×10 ⁻⁵	3,01×10 ⁻⁸		5,03×10 ⁻⁶	3,17×10 ⁻³	4,03×10 ⁻⁵	8,34×10 ⁻⁸	2,32×10 ⁻⁷	1,14×10 ⁻⁴		1,94×10 ⁻⁷	2,41×10 ⁻⁶		1,59×10 ⁻⁷
80	<i>K. pneumoniae</i>	2,93×10 ⁻⁵		3,21×10 ⁻⁶	8,76×10 ⁻⁶	1,27×10 ⁻²	1,22×10 ⁻⁴	4,03×10 ⁻⁶	1,35×10 ⁻⁶	3,97×10 ⁻⁴	1,61×10 ⁻⁵	7,59×10 ⁻⁶	2,45×10 ⁻⁶	6,64×10 ⁻⁶	3,74×10 ⁻⁶
81	<i>K. pneumoniae</i>	4,67×10 ⁻⁵	1,35×10 ⁻⁷	6,9×10 ⁻⁷	3,93×10 ⁻⁸	6,44×10 ⁻⁴	3,76×10 ⁻⁵	7,54×10 ⁻⁷	6,84×10 ⁻⁷	1,06×10 ⁻⁴	1,42×10 ⁻⁶	5,62×10 ⁻⁷	5,15×10 ⁻⁷		8,39×10 ⁻⁷
82	<i>K. pneumoniae</i>	7,88×10 ⁻⁶	5,01×10 ⁻⁸	1,12×10 ⁻⁷	3,93×10 ⁻⁸	2,96×10 ⁻³	1,98×10 ⁻⁴	5,99×10 ⁻⁸	2,8×10 ⁻⁸	3,01×10 ⁻⁴	1,82×10 ⁻⁷	1,68×10 ⁻⁷	4,81×10 ⁻⁷		8,59×10 ⁻⁷
83	<i>K. pneumoniae</i>	7,74×10 ⁻⁶		2,14×10 ⁻⁷	7,75×10 ⁻⁷	2,58×10 ⁻³	7,01×10 ⁻⁵	3,16×10 ⁻⁷	2,4×10 ⁻⁷	8,63×10 ⁻⁵		1,94×10 ⁻⁷	2,46×10 ⁻⁸		4,87×10 ⁻⁷
84	<i>K. pneumoniae</i>	1,51×10 ⁻⁴	3,15×10 ⁻⁵	2,73×10 ⁻⁵	2,85×10 ⁻⁵	1,12×10 ⁻³	4,38×10 ⁻⁶	4,35×10 ⁻⁷		1,88×10 ⁻⁵		9,71×10 ⁻⁶	1,53×10 ⁻⁷	3,05×10 ⁻⁵	1,84×10 ⁻⁷
85	<i>E.coli</i>	6,11×10 ⁻⁶		8,75×10 ⁻⁶		2,96×10 ⁻³	7,01×10 ⁻⁵	3,9×10 ⁻⁶	9,07×10 ⁻⁷	4,32×10 ⁻⁵	1,33×10 ⁻⁵	1,13×10 ⁻⁵	1,37×10 ⁻⁷		2,03×10 ⁻⁴
86	<i>P.aeruginosa</i>	1,86×10 ⁻⁵		2,54×10 ⁻⁵	9,92×10 ⁻⁵	9,77×10 ⁻⁴		1,11×10 ⁻⁵		2,66×10 ⁻⁵	5×10 ⁻⁵	1,25×10 ⁻⁴	1,01×10 ⁻⁵		1,96×10 ⁻⁴
87	<i>P.aeruginosa</i>	4,13×10 ⁻⁶		9,5×10 ⁻⁷	6,54×10 ⁻⁵	3,4×10 ⁻³	3,76×10 ⁻⁵	1,96×10 ⁻⁸	6,65×10 ⁻⁷	3,27×10 ⁻⁵	1,21×10 ⁻⁵	2,91×10 ⁻⁵	1,87×10 ⁻⁶	2,62×10 ⁻⁴	1,41×10 ⁻⁶
88	<i>Enterococcus sp.</i>	1,31×10 ⁻³		9,01×10 ⁻³	5,23×10 ⁻⁴	1,98×10 ⁻⁴		2,07×10 ⁻⁴	6,54×10 ⁻⁵	7,51×10 ⁻⁵	3,93×10 ⁻²	6,46×10 ⁻⁴	4,11×10 ⁻⁴	8,5×10 ⁻⁴	1,23×10 ⁻⁴
89	<i>Enterococcus sp.</i>	1,57×10 ⁻²	4,92×10 ⁻⁶	8×10 ⁻⁴	6,35×10 ⁻³	9,11×10 ⁻⁴		1,1×10 ⁻⁴	7,24×10 ⁻⁴		8,39×10 ⁻³	5,05×10 ⁻³	2,05×10 ⁻⁷		4,76×10 ⁻⁴
90	<i>Enterococcus sp.</i>	4,27×10 ⁻⁴		1×10 ⁻³	7,01×10 ⁻⁵	1,95×10 ⁻³		1,42×10 ⁻³	1,87×10 ⁻⁴	3,51×10 ⁻⁵	5,1×10 ⁻⁴	1,83×10 ⁻⁵	7,32×10 ⁻⁵		1,14×10 ⁻⁴
91	<i>Enterococcus sp.</i>	1,07×10 ⁻⁴	2,69×10 ⁻⁷	2,52×10 ⁻⁴	5,69×10 ⁻⁵	1,05×10 ⁻³		4,27×10 ⁻⁴	4,36×10 ⁻⁵		3,57×10 ⁻⁵	5,4×10 ⁻⁴	1,18×10 ⁻⁵		1,84×10 ⁻⁴
92	<i>Enterococcus sp.</i>	4,03×10 ⁻⁴	3,25×10 ⁻⁷	6,33×10 ⁻⁴	1,05×10 ⁻³	1,91×10 ⁻⁶		9,16×10 ⁻⁴	2,58×10 ⁻⁵	2,89×10 ⁻⁶	2,08×10 ⁻⁴	1,37×10 ⁻⁴	1,16×10 ⁻⁴		9,1×10 ⁻⁶
93	<i>Enterococcus sp.</i>	2,26×10 ⁻⁴	9,29×10 ⁻⁷		6,44×10 ⁻⁴	4,49×10 ⁻³		4,7×10 ⁻⁵	2,84×10 ⁻⁴		7,34×10 ⁻⁵		8,64×10 ⁻⁶		3,68×10 ⁻⁵
94	<i>Enterococcus sp.</i>	9,18×10 ⁻⁴		3,45×10 ⁻⁴				1,21×10 ⁻⁴	8,67×10 ⁻⁵	2,62×10 ⁻⁴		6,2×10 ⁻⁵			7,97×10 ⁻⁶

Приложение С. Экотоксикологические параметры проб воды очистных сооружений канализации

№ Пробы	Разведение	Ответ lux-биосенсора, М±m							
		<i>V. aquamarinus</i> ВКПМ В-11245	<i>E. coli</i> MG1655 (pRecA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pAlkA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pKatG-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pSoxS-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pIbpA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pFabA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pVFR1-lux)
1	10 ⁻²	12,59 ± 0,01	1,16 ± 0,03	2,93 ± 0,03	1,10 ± 0,03	1,24 ± 0,03	1,18±0,05	1,26±0,05	1,85±0,08
	10 ⁻³	23,7 ± 0,01	2,38 ± 0,22	2,18 ± 0,21	2,03 ± 0,21	2,55 ± 0,21	2,31±0,21	2,92±0,31	3,36±0,47
	10 ⁻⁴	6,58 ± 0,01	3,18 ± 0,07	3,76 ± 0,20	2,65 ± 0,06	2,96 ± 0,10	2,99±0,10	3,10±0,10	3,68±0,47
2	10 ⁻²	13,37 ± 0,02	4,01 ± 0,49	2,95 ± 0,65	3,80 ± 0,45	3,77 ± 0,50	3,94±0,49	3,83±0,53	5,43±1,00
	10 ⁻³	10,88 ± 0,03	1,55 ± 0,05	3,17 ± 0,11	1,41 ± 0,06	1,32 ± 0,09	1,54±0,07	1,33±0,08	2,01±0,47
	10 ⁻⁴	15,38 ± 0,01	1,60 ± 0,17	3,67 ± 0,82	1,45 ± 0,17	1,38 ± 0,16	1,64±0,20	1,42±0,17	2,31±0,31
3	100	0	1,70 ± 0,08	1,59 ± 0,26	1,05 ± 0,01	1,57±0,06	0,95±0,01	1,62±0,08	1,39±0,07
4	10 ⁻²	12,55 ± 0,01	3,40 ± 0,33	4,94 ± 0,61	3,31 ± 0,35	3,41 ± 0,33	3,62±0,34	4,02±0,61	5,22±0,61
	10 ⁻³	11,98 ± 0,02	2,19 ± 0,37	4,94 ± 0,66	2,34 ± 0,49	2,32 ± 0,49	3,23±0,95	2,92±0,90	4,46±1,32
	10 ⁻⁴	32,00 ± 0,01	1,46 ± 0,06	3,59 ± 0,25	1,35 ± 0,06	1,33 ± 0,06	1,42±0,09	1,23±0,06	2,43±0,21
5	10 ⁻²	8,16 ± 0,01	1,24 ± 0,04	2,36 ± 0,13	1,04 ± 0,02	1,05 ± 0,02	1,08±0,04	1,13±0,03	1,59±0,06
	10 ⁻³	6,13 ± 0,01	1,05 ± 0,04	1,22 ± 0,11	1,06 ± 0,02	1,05 ± 0,02	1,06±0,02	1,09±0,03	1,50±0,23
	10 ⁻⁴	7,82 ± 0,02	1,03 ± 0,05	1,57 ± 0,32	1,13 ± 0,02	1,22 ± 0,04	1,21±0,02	1,23±0,03	1,35±0,09
6	10 ⁻²	4,06 ± 0,02	0,64 ± 0,02	1,16 ± 0,11	0,73 ± 0,03	2,14 ± 0,01	0,61±0,01	1,10±0,06	1,91±0,23
	10 ⁻³	5,70 ± 0,01	0,82 ± 0,01	1,01 ± 0,16	0,61 ± 0,01	2,03 ± 0,01	0,62±0,01	1,15±0,05	1,40±0,05
	10 ⁻⁴	5,43 ± 0,01	0,91 ± 0,04	0,85 ± 0,01	0,80 ± 0,02	1,52 ± 0,01	0,87±0,03	1,17±0,02	4,47±0,43
7	10 ⁻²	7,07 ± 0,01	0,93 ± 0,02	1,05 ± 0,04	0,97 ± 0,02	1,23 ± 0,02	0,94±0,04	1,08±0,03	1,22±0,18

	10^{-3}	$9,54 \pm 0,04$	$0,95 \pm 0,04$	$1,03 \pm 0,15$	$0,95 \pm 0,04$	$1,12 \pm 0,01$	$1,05 \pm 0,05$	$1,08 \pm 0,02$	$1,55 \pm 0,13$
	10^{-4}	$5,22 \pm 0,02$	$0,72 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,10$	$0,68 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,06$	$1,17 \pm 0,09$	$1,81 \pm 0,11$
8	10^{-2}	$7,98 \pm 0,03$	$1,18 \pm 0,09$	$3,19 \pm 0,19$	$1,19 \pm 0,03$	$1,20 \pm 0,07$	$1,17 \pm 0,05$	$1,19 \pm 0,03$	$1,78 \pm 0,24$
	10^{-3}	0	$0,99 \pm 0,01$	$2,32 \pm 0,72$	$1,17 \pm 0,06$	$1,15 \pm 0,08$	$1,20 \pm 0,08$	$1,43 \pm 0,13$	$2,03 \pm 0,21$
	10^{-4}	0	$0,80 \pm 0,01$	$2,53 \pm 0,13$	$1,00 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,01$	$1,25 \pm 0,09$	$1,19 \pm 0,02$	$1,37 \pm 0,09$
9	10^{-2}	$12,17 \pm 0,03$	$0,98 \pm 0,03$	$1,50 \pm 0,05$	$1,16, \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,02$	$1,40 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,01$	$1,11 \pm 0,01$
	10^{-3}	$12,26 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,02$	$1,71 \pm 0,16$	$1,22 \pm 0,02$	$1,25 \pm 0,02$	$1,27 \pm 0,03$	$1,19 \pm 0,02$	$1,24 \pm 0,05$
	10^{-4}	$20,27 \pm 0,01$	$0,93 \pm 0,02$	$1,88 \pm 0,14$	$1,06 \pm 0,02$	$1,13 \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,03$	$1,14 \pm 0,03$
10	10^{-2}	$17,21 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,02$	$1,14 \pm 0,09$	$1,04 \pm 0,05$	$1,14 \pm 0,02$	$1,15 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,05$	$1,06 \pm 0,05$
	10^{-3}	$13,36 \pm 0,01$	$1,39 \pm 0,02$	$0,93 \pm 0,08$	$1,06 \pm 0,02$	$1,12 \pm 0,04$	$1,05 \pm 0,04$	$1,07 \pm 0,05$	$1,14 \pm 0,02$
	10^{-4}	$2,28 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,03$	$1,38 \pm 0,07$	$1,03 \pm 0,01$	$1,06 \pm 0,01$	$1,10 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,07$	$1,03 \pm 0,03$
11	100	0	$0,86 \pm 0,02$	$1,05 \pm 0,04$	$0,96 \pm 0,01$	$0,95 \pm 0,01$	$0,99 \pm 0,08$	$1,33 \pm 0,14$	$1,01 \pm 0,13$
12	10^{-2}	$14,70 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,03$	$1,82 \pm 0,06$	$1,59 \pm 0,05$	$1,09 \pm 0,03$	$1,15 \pm 0,03$	$1,54 \pm 0,09$	$1,14 \pm 0,07$
	10^{-3}	$9,18 \pm 0,01$	$1,00 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,08$	$1,08 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,04$	$1,13 \pm 0,05$	$1,09 \pm 0,02$
	10^{-4}	$14,86 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,01$	$1,33 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,02$	$1,13 \pm 0,01$	$1,08 \pm 0,04$
13	10^{-2}	$15,93 \pm 0,02$	$0,99 \pm 0,02$	$1,45 \pm 0,02$	$1,09 \pm 0,04$	$1,12 \pm 0,06$	$1,12 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,05$
	10^{-3}	$5,93 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,02$	$1,06 \pm 0,03$	$1,02 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,03$	$1,13 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,05$
	10^{-4}	$11,61 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,02$	$1,85 \pm 0,21$	$1,08 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,05$	$1,10 \pm 0,04$	$1,20 \pm 0,04$	$1,09 \pm 0,06$
14	10^{-2}	$15,96 \pm 0,01$	$1,44 \pm 0,06$	$1,77 \pm 0,15$	$1,10 \pm 0,02$	$1,23 \pm 0,04$	$1,05 \pm 0,02$	$1,08 \pm 0,02$	$1,31 \pm 0,10$
	10^{-3}	$14,14 \pm 0,02$	$2,37 \pm 0,15$	$1,68 \pm 0,12$	$1,81 \pm 0,13$	$2,39 \pm 0,13$	$1,84 \pm 0,14$	$1,20 \pm 0,06$	$1,56 \pm 0,10$
	10^{-4}	$16,81 \pm 0,02$	$1,42 \pm 0,19$	$1,49 \pm 0,08$	$1,23 \pm 0,18$	$1,23 \pm 0,19$	$1,28 \pm 0,15$	$1,12 \pm 0,04$	$1,78 \pm 0,24$

15	10^{-2}	$18,32 \pm 0,01$	$1,22 \pm 0,06$	$2,26 \pm 0,15$	$1,19 \pm 0,05$	$1,18 \pm 0,01$	$1,49 \pm 0,06$	$1,19 \pm 0,06$	$6,67 \pm 1,07$
	10^{-3}	$10,77 \pm 0,12$	$1,39 \pm 0,05$	$2,51 \pm 0,08$	$1,35 \pm 0,06$	$1,37 \pm 0,01$	$1,80 \pm 0,11$	$1,27 \pm 0,03$	$1,61 \pm 0,14$
	10^{-4}	$11,60 \pm 0,04$	$1,59 \pm 0,06$	$3,07 \pm 0,19$	$1,49 \pm 0,05$	$1,32 \pm 0,06$	$3,33 \pm 0,27$	$1,88 \pm 0,12$	$1,97 \pm 0,21$
16	10^{-2}	$8,81 \pm 0,03$	$1,22 \pm 0,05$	$3,27 \pm 0,12$	$1,17 \pm 0,05$	$1,13 \pm 0,02$	$1,13 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,03$	$1,15 \pm 0,04$
	10^{-3}	$7,69 \pm 0,03$	$1,19 \pm 0,03$	$1,84 \pm 0,10$	$1,19 \pm 0,06$	$1,33 \pm 0,11$	$1,10 \pm 0,06$	$0,86 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,04$
	10^{-4}	$13,70 \pm 0,01$	$1,09 \pm 0,04$	$1,14 \pm 0,04$	$1,09 \pm 0,04$	$1,06 \pm 0,04$	$3,33 \pm 0,23$	$1,19 \pm 0,01$	$1,10 \pm 0,03$
17	10^{-2}	$34,17 \pm 0,05$	$1,95 \pm 0,04$	$2,11 \pm 0,12$	$1,98 \pm 0,08$	$1,32 \pm 0,01$	$2,53 \pm 0,11$	$1,11 \pm 0,15$	$1,09 \pm 0,06$
	10^{-3}	$5,32 \pm 0,03$	$0,59 \pm 0,02$	$0,97 \pm 0,06$	$0,53 \pm 0,02$	$1,04 \pm 0,01$	$0,59 \pm 0,01$	$1,42 \pm 0,07$	$1,16 \pm 0,03$
	10^{-4}	$6,18 \pm 0,01$	$0,55 \pm 0,02$	$0,73 \pm 0,07$	$0,54 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,01$	$0,57 \pm 0,02$	$1,27 \pm 0,17$	$1,11 \pm 0,06$
18	10^{-2}	$3,57 \pm 0,01$	$0,55 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,02$	$1,98 \pm 0,02$	$0,83 \pm 0,08$	$1,20 \pm 0,04$	$1,09 \pm 0,02$
	10^{-3}	$8,66 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$	$0,64 \pm 0,05$	$0,65 \pm 0,02$	$2,40 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,08$	$1,24 \pm 0,04$	$1,24 \pm 0,06$
	10^{-4}	$6,64 \pm 0,01$	$0,56 \pm 0,02$	$0,73 \pm 0,14$	$0,59 \pm 0,02$	$1,78 \pm 0,01$	$0,85 \pm 0,01$	$1,22 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,01$
19	10^{-2}	$1,62 \pm 0,02$	$1,32 \pm 0,02$	$1,30 \pm 0,10$	$1,14 \pm 0,03$	$1,23 \pm 0,03$	$1,15 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,04$	$1,29 \pm 0,04$
	10^{-3}	$8,77 \pm 0,01$	$1,16 \pm 0,02$	$2,21 \pm 0,13$	$1,10 \pm 0,03$	$1,17 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,02$	$1,21 \pm 0,08$	$1,15 \pm 0,04$
	10^{-4}	$9,73 \pm 0,01$	$1,19 \pm 0,03$	$1,83 \pm 0,08$	$1,12 \pm 0,02$	$1,20 \pm 0,03$	$1,11 \pm 0,02$	$1,11 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,05$
20	10^{-2}	$11,29 \pm 0,01$	$1,16 \pm 0,02$	$1,82 \pm 0,04$	$1,15 \pm 0,03$	$1,14 \pm 0,01$	$1,06 \pm 0,02$	$1,18 \pm 0,01$	$1,11 \pm 0,02$
	10^{-3}	$13,95 \pm 0,01$	$1,42 \pm 0,04$	$1,37 \pm 0,05$	$1,30 \pm 0,03$	$1,19 \pm 0,02$	$1,35 \pm 0,03$	$1,29 \pm 0,05$	$1,22 \pm 0,04$
	10^{-4}	$7,93 \pm 0,03$	$1,18 \pm 0,09$	$2,40 \pm 0,36$	$1,77 \pm 0,26$	$1,23 \pm 0,06$	$1,29 \pm 0,21$	$1,26 \pm 0,14$	$1,25 \pm 0,20$
21	10^{-2}	$6,65 \pm 0,04$	$1,28 \pm 0,15$	$1,91 \pm 0,14$	$0,96 \pm 0,13$	$1,36 \pm 0,15$	$1,42 \pm 0,35$	$1,35 \pm 0,21$	$1,57 \pm 0,42$
	10^{-3}	$7,93 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,01$	$2,07 \pm 0,15$	$1,14 \pm 0,02$	$1,22 \pm 0,02$	$1,13 \pm 0,02$	$1,34 \pm 0,11$	$1,08 \pm 0,02$
	10^{-4}	$9,23 \pm 0,01$	$1,24 \pm 0,03$	$1,34 \pm 0,07$	$1,18 \pm 0,02$	$1,25 \pm 0,03$	$1,16 \pm 0,03$	$1,30 \pm 0,05$	$1,06 \pm 0,04$

22	10^{-2}	$2,63 \pm 0,04$	$1,52 \pm 0,07$	$1,73 \pm 0,28$	$1,38 \pm 0,05$	$1,15 \pm 0,05$	$1,08 \pm 0,04$	$1,38 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,02$
	10^{-3}	0	$1,60 \pm 0,06$	$2,31 \pm 0,21$	$1,89 \pm 0,02$	$1,89 \pm 0,08$	$1,04 \pm 0,03$	$1,34 \pm 0,06$	$1,30 \pm 0,10$
	10^{-4}	0	$1,33 \pm 0,19$	$2,12 \pm 0,33$	$1,13 \pm 0,08$	$1,25 \pm 0,07$	$1,35 \pm 0,26$	$1,17 \pm 0,10$	$1,39 \pm 0,16$
23	10^{-2}	$23,66 \pm 0,02$	$1,47 \pm 0,08$	$1,80 \pm 0,12$	$1,24 \pm 0,07$	$1,21 \pm 0,04$	$1,69 \pm 0,04$	$4,02 \pm 0,19$	$3,89 \pm 0,10$
	10^{-3}	$15,52 \pm 0,02$	$1,10 \pm 0,04$	$1,46 \pm 0,08$	$0,92 \pm 0,06$	$1,11 \pm 0,04$	$1,68 \pm 0,05$	$3,39 \pm 0,30$	$3,24 \pm 0,08$
	10^{-4}	$13,31 \pm 0,01$	$1,13 \pm 0,02$	$1,19 \pm 0,08$	$0,98 \pm 0,01$	$1,15 \pm 0,02$	$1,68 \pm 0,04$	$2,82 \pm 0,05$	$2,60 \pm 0,04$
24	10^{-2}	$11,82 \pm 0,01$	$1,02 \pm 0,01$	$1,41 \pm 0,15$	$0,87 \pm 0,06$	$1,09 \pm 0,03$	$1,60 \pm 0,04$	$2,76 \pm 0,21$	$3,69 \pm 0,11$
	10^{-3}	$11,07 \pm 0,01$	$1,24 \pm 0,02$	$1,44 \pm 0,19$	$1,01 \pm 0,01$	$1,17 \pm 0,03$	$1,80 \pm 0,06$	$3,18 \pm 0,10$	$2,81 \pm 0,12$
	10^{-4}	$1,61 \pm 0,05$	$1,12 \pm 0,08$	$1,30 \pm 0,06$	$1,06 \pm 0,06$	$0,92 \pm 0,08$	$1,85 \pm 0,12$	$2,17 \pm 0,09$	$3,12 \pm 0,06$
25	100	0	$1,14 \pm 0,06$	$2,33 \pm 0,16$	$1,40 \pm 0,13$	$0,94 \pm 0,03$	$0,81 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,13$	$1,93 \pm 0,17$

Приложение Т. Экоотоксикологические параметры проб воды рек Дон и Темерник в акватории г. Ростова-на-Дону и Азова

№ Пробы	Дата отбора	Место отбора	Ответ lux-биосенсора, M±m							
			V. <i>aquamarinus</i> ВКПМ В-11245	<i>E. coli</i> MG1655 (pRecA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pAlkA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pKatG-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pSoxS-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pIbpA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pFabA-lux)	<i>E. coli</i> MG1655 (pVFR1-lux)
26	22.03.2021	Водозабор	12,58±0,01	1,37±0,12	1,99±0,20	1,11±0,04	1,61±0,13	1,17±0,08	1,50±0,17	1,50±0,12
27		Городской пляж	13,07±0,05	1,22±0,02	1,51±0,20	1,13±0,05	1,43±0,04	1,08±0,03	2,12±0,30	1,34±0,12
28		Речной вокзал	14,38±0,01	1,12±0,02	1,50±0,20	1,10±0,06	1,36±0,03	1,01±0,02	1,21±0,05	1,12±0,05
29		Р. Дон в районе устья р. Темерник	12,89±0,03	1,45±0,08	1,81±0,02	1,17±0,03	1,72±0,05	1,34±0,05	1,90±0,10	1,40±0,3
30	12.05.2021	Водозабор	17,34±0,01	0,97±0,05	1,66±0,19	1,15±0,04	1,16±0,05	0,90±0,05	0,93±0,05	1,12±0,18
31		Городской пляж	16,61±0,03	1,13±0,04	2,03±0,29	1,06±0,02	1,36±0,05	1,09±0,04	1,03±0,02	1,58±0,31
32		Речной вокзал	13,67±0,08	0,98±0,04	1,58±0,31	1,08±0,03	1,30±0,08	1,48±0,07	2,12±0,32	1,65±0,24
33		Р. Дон в районе устья р. Темерник	14,10±0,08	0,90±0,06	1,85±0,45	1,09±0,02	1,53±0,07	1,52±0,15	1,67±0,10	2,21±0,18
34	8.06.2021	Водозабор	15,64±0,03	1,25±0,02	1,68±0,17	1,12±0,05	0,83±0,12	1,34±0,02	1,87±0,26	1,36±0,16
35		Городской пляж	16,63±0,08	1,30±0,01	1,52±0,21	1,08±0,01	0,98±0,01	1,41±0,02	1,68±0,11	1,32±0,10
36		Речной вокзал	17,05±0,01	1,21±0,03	1,36±0,23	1,11±0,03	1,01±0,01	1,28±0,04	1,03±0,18	0,97±0,16
37		Р. Дон в районе устья р. Темерник	13,81±0,12	1,17±0,06	1,21±0,14	0,93±0,13	0,82±0,15	1,28±0,10	1,37±0,25	1,17±0,18
38	25.03.2022	Водозабор	5,06±0,04	1,23±0,03	1,23±0,18	1,13±0,04	1,01±0,03	1,28±0,04	1,38±0,51	1,55±0,54
39		Городской пляж	13,29±0,02	1,26±0,02	1,61±0,32	1,14±0,03	1,05±0,02	1,40±0,03	1,79±0,06	1,45±0,04
40		Речной вокзал	18,10±0,08	1,24±0,05	1,38±0,24	1,35±0,05	1,16±0,01	1,02±0,02	1,01±0,09	0,97±0,13
41		Р. Дон в районе устья р. Темерник	22,10±0,04	2,01±0,04	1,68±0,31	1,80±0,07	1,55±0,08	1,57±0,12	1,79±0,05	1,47±0,03
42		Место сброса СТВ	11,05±0,05	1,24±0,04	1,41±0,26	1,20±0,05	1,07±0,03	1,39±0,04	1,22±0,10	1,39±0,09
43	17.05.2022	Водозабор	1,88±0,02	1,28±0,01	1,73±0,33	1,22±0,01	1,00±0,04	1,33±0,04	1,49±0,29	1,08±0,07
44		Городской пляж	16,40±0,09	1,30±0,03	1,75±0,15	1,14±0,04	1,47±0,05	1,02±0,14	1,79±0,10	1,41±0,08
45		Речной вокзал	8,64±0,07	1,33±0,05	1,97±0,32	1,22±0,04	1,51±0,04	1,78±0,16	1,24±0,27	1,44±0,06

46		Р. Дон в районе устья р. Темерник	4,97±0,05	1,35±0,05	1,89±0,10	1,26±0,05	1,04±0,03	1,20±0,04	1,46±0,31	1,02±0,20
47	27.06.2023	Водозабор	8,83±0,03	1,25±0,01	1,57±0,08	1,14±0,01	1,00±0,03	1,31±0,03	1,46±0,31	1,28±0,27
48		Городской пляж	7,58±0,02	1,28±0,03	1,21±0,11	1,15±0,02	1,07±0,06	1,07±0,18	1,62±0,09	1,45±0,03
49		Речной вокзал	3,58±0,03	1,24±0,03	1,18±0,04	1,12±0,02	1,08±0,07	1,50±0,08	1,14±0,29	1,03±0,23
50		Р. Дон в районе устья р. Темерник	9,42±0,03	1,18±0,03	1,62±0,23	1,09±0,03	1,03±0,04	1,32±0,05	1,43±0,23	2,08±0,33
51	10.10.2023	Водозабор	6,06±0,02	0,93±0,02	1,36±0,27	1,12±0,06	1,09±0,03	0,86±0,02	0,93±0,11	1,42±0,20
52		Городской пляж	7,03±0,03	1,07±0,06	1,46±0,10	1,09±0,04	1,26±0,06	1,03±0,05	1,09±0,07	1,37±0,10
53		Речной вокзал	2,98±0,07	1,12±0,06	1,98±0,10	1,18±0,04	1,26±0,05	1,16±0,12	1,96±0,33	1,84±0,21
54		Р. Дон в районе устья р. Темерник	0,98±0,06	1,36±0,06	2,17±0,11	0,94±0,07	1,74±0,05	1,37±0,18	2,21±0,30	1,84±0,25
55		Место сброса СТВ	1,94±0,03	0,95±0,05	1,34±0,13	1,06±0,04	1,08±0,07	0,88±0,05	0,81±0,05	1,08±0,23
56		Устье р. Темерник	4,04±0,10	1,04±0,05	1,34±0,15	1,10±0,05	1,21±0,03	1,00±0,02	1,05±0,12	1,26±0,15

Приложение У. Экотоксикологические параметры проб воды реки Дон в акватории г. Азова

№ Пробы	Дата отбора	Место отбора	Ответ lux-биосенсора, М±m							
			V. <i>aquamarinus</i> ВКПМ В-11245	E. <i>coli</i> MG1655 (pRecA-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pAlkA-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pKatG-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pSoxS-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pIbpA-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pFabA-lux)	E. <i>coli</i> MG1655 (pVFR1-lux)
57	15.06.2021	Водозабор	11,40±0,00	0,56±0,01	0,87±0,08	0,61±0,01	0,60±0,02	0,53±0,01	0,61±0,04	0,66±0,15
58		Место сброса СТВ	13,53±0,03	0,50±0,02	0,76±0,04	0,57±0,03	0,53±0,01	0,44±0,02	0,59±0,02	0,55±0,03
59		Место рекреации	17,14±0,16	0,58±0,02	0,65±0,03	0,63±0,01	0,63±0,01	0,55±0,02	1,04±0,26	0,95±0,05
60	20.07.2021	Водозабор	11,93±0,06	0,65±0,01	1,04±0,12	0,84±0,02	0,71±0,02	0,61±0,01	0,88±0,15	0,66±0,01
61		Место сброса СТВ	11,25±0,05	0,55±0,03	0,96±0,11	0,62±0,01	0,57±0,02	0,51±0,03	1,41±0,13	0,55±0,03
62		Место рекреации	16,47±0,11	0,54±0,01	0,75±0,11	0,64±0,02	0,58±0,1	0,51±0,02	0,56±0,03	0,95±0,05
63	5.10.2021	Водозабор	17,74±0,02	1,14±0,05	1,52±0,30	1,40±0,01	1,30±0,02	1,30±0,04	1,42±0,08	1,26±0,03
64		Место сброса СТВ	26,49±0,06	3,72±1,44	2,41±0,94	3,00±1,13	3,40±1,31	2,05±0,70	2,26±0,85	1,38±0,05
65		Место рекреации	26,27±0,01	1,23±0,03	1,41±0,22	1,18±0,04	1,17±0,04	1,16±0,17	1,64±0,54	2,15±0,63
66	9.11.2021	Водозабор	16,18±0,01	0,71±0,01	0,88±0,16	0,85±0,03	0,79±0,02	1,11±0,03	1,67±0,10	1,15±0,09
67		Место сброса СТВ	10,25±0,09	0,56±0,01	0,72±0,22	0,72±0,01	0,62±0,01	0,92±0,01	0,61±0,04	1,09±0,01
68		Место рекреации	12,76±0,02	1,49±0,06	1,44±0,33	1,45±0,06	1,70±0,06	1,4±0,06	0,81±0,15	2,08±0,21
69	29.03.2022	Водозабор	29,51±0,10	2,22±0,46	1,35±0,21	1,59±0,03	1,79±0,05	1,81±0,03	3,32±0,11	3,04±0,06
70		Место сброса СТВ	36,96±0,02	1,65±0,10	1,18±0,13	1,44±0,02	1,63±0,04	1,68±0,05	4,22±0,07	2,72±0,03

71		Место рекреации	36,19±0,04	2,00±0,30	1,08±0,15	1,49±0,03	1,74±0,03	1,52±0,04	3,62±0,43	2,89±0,06
72	5.07.2022	Водозабор	12,47±0,02	1,21±0,05	1,68±0,28	1,19±0,05	1,12±0,06	1,35±0,06	1,46±0,27	1,42±0,23
73		Место сброса СТВ	16,48±0,02	1,21±0,03	1,66±0,23	1,20±0,03	1,10±0,03	1,29±0,02	1,72±0,05	1,57±0,03
74		Место рекреации	12,68±0,02	1,37±0,03	1,96±0,17	1,14±0,02	1,42±0,06	1,18±0,08	1,68±0,16	1,16±0,08
75	13.09.2022	Водозабор	26,38±0,28	1,29±0,27	0,96±0,16	1,39±0,04	1,30±0,15	1,52±0,08	2,69±0,27	2,37±0,07
76		Место сброса СТВ	30,27±0,01	2,07±0,13	1,09±0,09	1,58±0,04	2,05±0,05	1,59±0,04	3,47±0,07	2,73±0,07
77		Место рекреации	30,00±0,00	2,15±0,11	1,47±0,52	1,53±0,02	1,79±0,02	1,54±0,05	4,51±0,09	3,11±0,04
78	18.04.2023	Водозабор	12,68±0,01	1,24±0,02	1,82±0,23	1,02±0,02	0,96±0,03	1,08±0,05	1,59±0,31	1,29±0,24
79		Место сброса СТВ	11,70±0,05	1,29±0,12	1,87±0,23	1,25±0,07	1,23±0,06	1,22±0,16	1,87±0,39	1,44±0,16
80		Место рекреации	18,45±0,03	1,26±0,06	1,79±0,29	1,26±0,03	1,13±0,06	1,48±0,10	1,68±0,03	1,30±0,04
81	4.07.2023	Водозабор	21,60±0,06	2,12±0,38	1,28±0,10	1,30±0,03	1,58±0,03	1,99±0,02	3,72±0,13	2,82±0,04
82		Место сброса СТВ	29,99±0,00	1,34±0,04	1,34±0,06	1,38±0,05	1,67±0,02	1,92±0,06	3,33±0,30	2,57±0,06
83		Место рекреации	21,73±0,03	2,14±0,14	1,47±0,32	1,35±0,01	1,51±0,02	1,74±0,07	3,04±0,38	2,65±0,04