

DOI: 10.18522/2308-9709-2025-54-11

УДК (579.63: 504.4.054 : 615.015.8)

## **ОЦЕНКА РЕЗИСТОМА УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОДЫ РЕК ДОН И ТЕМЕРНИК В АКВАТОРИИ ГОРОДОВ РОСТОВ-НА-ДОНУ И АЗОВ**

Седова Д. А.<sup>1,2\*</sup>, Егорова Е.А.<sup>1</sup>, Сазыкина М. А.<sup>1</sup>, Журавлев П. В.<sup>3</sup>, Хмелевцова Л. Е.<sup>1</sup>,  
Ажогина Т. Н.<sup>1</sup>, Березинская И. С.<sup>4</sup>, Сазыкин И. С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>2</sup>Донской государственной технической университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>3</sup>Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

<sup>4</sup>Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону,  
Россия

dased0va@yandex.ru\*

nice.puchkina@mail.ru

samara@sfnedu.ru

pitthegreat@yandex.ru

lehmelevcova@sfnedu.ru

tazhogina@sfnedu.ru

aleshukina@yandex.ru

issa@sfnedu.ru

ORCID: (0000-0003-1194-7251, 0000-0002-8196-3882, 0000-0001-6974-3361, 0009-0007-3438-4515, 0000-0003-0781-2207, 0000-0001-7503-0608, 0000-0002-0864-1473)

### **Аннотация**

Антибиотикорезистентность условно-патогенных бактерий водной среды представляет значимую угрозу для здравоохранения, поскольку микробиомы водных экосистем служат как резервуаром, так и возможным источником распространения генов антибиотикорезистентности (АРГ). Цель настоящей работы – анализ фенотипической устойчивости и детекция АРГ условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из вод рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов. Поскольку распространение АРГ связано с мобильными генетическими элементами (МГЭ), в геномной ДНК бактерий определяли также гены интеграз 1, 2 и 3 классов (*intI1*, *intI2*, *intI3*). Из проб воды были

выделены штаммы *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Citrobacter braakii*. Результаты определения чувствительности к антибактериальным препаратам показали, что наиболее высокий индекс множественной лекарственной устойчивости (MAR-индекс) характерен для штаммов *P. aeruginosa* далее следовали *Enterococcus spp.* и представители *Enterobacteriaceae*. Количество копий генов антибиотикорезистентности (*bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *mecA*, *vanA*, *tetO*, *ermB*, *mphA*, *sul2*, *aadA2*) и генов интеграз определяли методом количественной ПЦР. Наиболее часто выявлялись и имели повышенное относительное содержание гены *sul2*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *tetO* и *aadA2*, а также интегроны 1-го класса. Гены устойчивости к метициллину (*mecA*) и макролидам (*mphA*) имели низкую частоту встречаемости у исследованных бактерий. Обнаружены значимые положительные корреляции между относительным содержанием *vanA* и устойчивостью к колистину, *tetO*/тетрациклину, *tetO*/доксциклину, *bla<sub>VIM</sub>*/ампициллину. Гены устойчивости *vanA*, *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2* и *ermB* имели положительную значимую корреляцию с *intI1*, *intI2* с *mecA*, а *intI3* с *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2*, *aadA2*, что может свидетельствовать о роли МГЭ, в частности, интегров, в горизонтальном переносе данных АРГ.

### Ключевые слова

Антибиотикорезистентность, антибиотикорезистентные бактерии, гены антибиотикорезистентности, клебсиеллы, колиформные бактерии, синегнойные палочки.

### Введение

Проблема антибиотикорезистентности микроорганизмов в окружающей среде, в частности водной, в настоящее время является объектом повсеместного изучения (Larsson et al., 2022). Данный факт обусловлен значимой ролью экологического мониторинга объектов окружающей среды (вода, воздух, почва) в защите общественного здоровья (Jamrani et al., 2022; Zhu et al., 2025). Данные литературы свидетельствуют о том, что водные экосистемы могут выступать в качестве резервуара накопления и дессиминации антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) и генов антибиотикорезистентности (АРГ). В последние годы АРБ и АРГ все чаще обнаруживаются не только в образцах клинического материала, но и в объектах водной среды, куда могут потенциально попадать с хозяйственно-бытовыми и больничными сточными водами (Numberger et al., 2019). Нерациональное применение антибактериальных препаратов (АБП) в медицине, сельском хозяйстве (животноводстве, растениеводстве) и

аквакультуре приводит к накоплению неметаболизированных АБП в объектах окружающей среды, создавая селективное давление для возникновения и распространения новых детерминант резистентности (FAO, 2022).

Условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), обладающие этиологической значимостью в возникновении инфекционных заболеваний человека и животных, постоянно поступают в объекты окружающей среды, сточные воды и далее в поверхностные водоемы. Эти микроорганизмы могут быть носителями детерминант лекарственной устойчивости, локализованных в мобильных генетических элементах (МГЭ) (плазидах, интегронах, транспозонах), что способствует горизонтальному переносу генов (ГПП) резистентности между различными видами бактерий (Xu et al., 2020).

В поверхностных водоемах повсеместно распространены УПМ, ассоциированные с антибиотикорезистентностью, в том числе множественной. Представители родов *Pseudomonas*, *Enterococcus* и семейства *Enterobacteriaceae* входят группу ESKAPE-патогенов (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.*), за которыми ведётся приоритетный мониторинг антибиотикорезистентности (Matlou et al., 2019). Среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* следует выделить *Escherichia 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<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>*, *bla<sub>TEM</sub>*) и карбапенемаз (*bla<sub>KPC</sub>*) (Namatovu et al., 2025; Moghaddam et al., 2014).

Энтерококки также представляют особый интерес как санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ) 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 следующих АРГ устойчивости к ванкомицину/тейкопланину: *vanA*, *vanB*, *vanC1*,

*vanC2/C3*, которые могут быть как хромосомными, так и плазмидо-опосредованными (Moosavian и др., 2018; Mirzaie et al., 2023).

Таким образом, целью настоящего исследования стал анализ профилей фено- и генотипической резистентности СПМ (*E. coli* и *Enterococcus spp.*) и УПМ (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *C. braaki*), выделенных из поверхностных вод нижнего течения реки Дон и реки Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону и Азов. Особое внимание было уделено поиску взаимосвязи между параметрами фенотипической и генотипической устойчивости исследованных бактерий, а также между наличием генов интеграз 1–3 классов, как маркеров ГПГ, и содержанием АРГ.

## **Объекты и методы**

### **Отбор проб**

Исследование проводили с апреля по ноябрь 2023 г. За этот период было проанализировано 54 пробы рек Дон (8 биотопов) и Темерник (1 биотоп). Пробы воды из реки Дон отбирались в семи точках: водозабор г. Азов, место сброса сточных вод г. Азов, городской пляж г. Азов, участок 500 м ниже выпуска Ростовской городской канализации, Ростовский городской пляж, районы водозабора и речного вокзала г. Ростов-на-Дону; пробы воды из реки Темерник отбирались в устье. Отбор проб осуществлялся в соответствии с ГОСТ 31942–2012 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа».

### **Выделение и идентификация бактерий**

Изоляцию бактерий из образцов воды проводили в соответствии со стандартной методикой МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». Для культивирования бактерий использовали элективные агаризованные питательные среды: Энтерококкагар (*Enterococcus spp.*), Эндо, XLD (колиформные бактерии) («ФБУН ГНЦ ПМБ», Россия), Псевдомонас-АПС (*P. aeruginosa*), Клебсиелла-АСК (*K. pneumoniae*) («ОНТ НИИЭМ им. Пастера», Россия), Цетримидный агар (Merck Millipore, Германия). Биохимическую активность определяли с помощью биохимических тестовых систем: OXItest, INDOLtest, NEFERMtest 24 и ENTEROtest 24 (Erba Lachema, Чехия).

Окончательная видовая идентификация проводилась методом матричной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF MS) на приборе Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия)

с использованием программного обеспечения FlexControl и базы данных MALDI Biotyper. Визуализация спектров проводилась в программе FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics, Германия) (Чеботарь и др., 2018).

### **Определение чувствительности к антибиотикам**

Чувствительность к 32 антибактериальным препаратам (АБП) определяли диско-диффузионным методом согласно клиническим рекомендациям EUCAST на агаре Мюллера-Хинтон («ФБУН ГНЦ ПМБ», Россия) (EUCAST, 2019). Список АБП по классам:  $\beta$ -лактамы (ампициллин/сульбактам, амоксициллин/клавуланат, тикарциллин/клавуланат, цефазолин, цефиксим, цефепим, цефоперазон, цефтазидим, цефтибутен, цефтриаксон, цефотаксим, имипенем, меропенем, дорипенем, эртапенем, бензилпенициллин, оксациллин); аминогликозиды (гентамицин, амикацин); фторхинолоны (ципрофлоксацин, левофлоксацин, пефлоксацин); тетрациклины (тетрациклин, доксициклин); макролиды (эритромицин); гликопептиды (ванкомицин); оксазолидиноны (линезолид); полимиксины (колистин); прочие (левомецетин, ко-тримоксазол, нитрофурантоин, фосфомицин) («НИЦФ», Россия).

### **Экстракция ДНК**

Бактериальную ДНК выделяли в соответствии с методикой (Сазыкина и др., 2019). Концентрацию полученной ДНК оценивали на флуориметре «Qubit 4» (Thermo Fisher Scientific, США). Выделенную геномную ДНК бактерий хранили при температуре -20 °С перед проведением ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

### **Детекция АРГ методом ПЦР-РВ**

В ходе работы были исследованы девять АРГ: *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *mecA*, *vanA*, *tetO*, *ermB*, *mphA*, *sul2*, *aadA2* включая гены интегронов 3 классов (*intI1*, *intI2*, *intI3*). Количественную ПЦР (ПЦР-РВ) проводили в объеме 25 мкл, содержащем 1× реакционную смесь с красителем Eva Green (Synthol, Москва, Россия), по 0.2 мкМ каждого праймера (Evrogen, Москва, Россия) и 25 нг матричной ДНК. Последовательности праймеров, условия амплификации, стандартизация и калибровка описаны в предыдущем исследовании (Ажогина и др., 2024). Амплификацию ДНК выполняли на термоциклере серии 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.

### **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 интегронов применялся коэффициент корреляции Спирмена, между наличием АРГ и данными фенотипической резистентности – Пирсона.

## Результаты и обсуждение

### Фенотипическая резистентность

В ходе исследования было идентифицировано и проанализировано 37 штаммов: *E. coli* – 7 (91, 107, 112, 114, 115, 118, 216), *Enterococcus spp.* – 7 (490, 492, 493, 494, 495, 496, 497), *P. aeruginosa* – 13 (219, 373, 379, 382, 386, 432, 434, 472, 484, 485, 486, 487, 489), *K. pneumoniae* – 9 (80, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 99, 147, 148), *S. braaki* – 1 (108). Номера штаммов соответствуют регистрационному номеру в лабораторном журнале учета патогенных биологических агентов, находящихся в рабочей коллекции.

У представителей семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из рек Дон и Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону и Азов, была определена антибиотикочувствительность к 20 АБП (рис. 1).

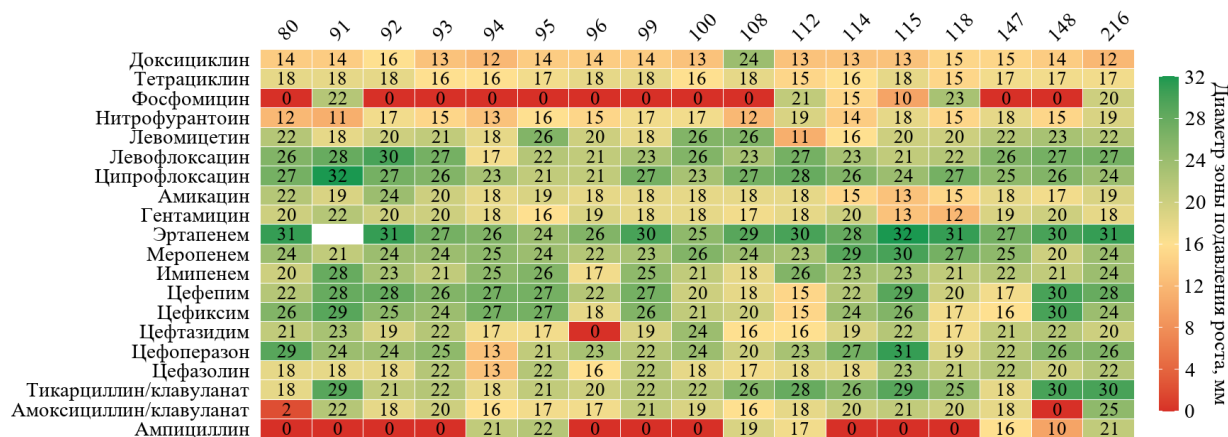


Рисунок 1. Чувствительность к антибиотикам бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных из проб воды р. Дон и р. Темерник

Показано, что среди колиформных бактерий большинство микроорганизмов были резистентны к фосфомицину. К его действию устойчивы 12 штаммов из 17, т. е. устойчивость

составляет 70.5 %. Неэффективное действие по отношению к выделенным штаммам также показал ампициллин. К нему были устойчивы 11 культур из 17 (64.7 %). К доксициклину и нитрофурантоину практически все культуры (9 и 8 из 12 штаммов) обладали промежуточной чувствительностью.

Штаммы *K. pneumoniae*, выделенные из проб воды на пляже г. Азов (80, 92, 93), были резистентны к 5–6 антибиотикам из 20, т. е. устойчивы к 25–30 % тестируемым АБП.

Колиформные бактерии, изолированные в акватории г. Ростов-на-Дону, проявили абсолютную чувствительность (100 %) к имипенему, меропенему, тикарциллин/клавуланату, ципрофлоксацину, левофлоксацину. К ампициллину и цефазолину выявлено 85.7 % чувствительных штаммов. Доля промежуточно-чувствительных штаммов к колистину составила 63.7 %. Наименьшую чувствительность энтеробактерии проявили к АБП тетрациклинового ряда (доксициклин, тетрациклин).

Больше всего резистентных штаммов колиформных бактерий р. Дон в акватории г. Азов отмечено к ампициллину и фосфомицину. К фосфомицину были устойчивы 77.8 % выделенных штаммов (7 из 9), а к ампициллину – 66.7 %, т. е. 6 из 9 выделенных штаммов СПМ. Наибольшие диаметры зон подавления роста были отмечены для карбапенемов, в особенности у эртапенема (до 31 мм). Также абсолютная чувствительность выделенных штаммов была выявлена к аминогликозидам (гентамицин, амикацин), фторхинолонам (ципрофлоксацин, левофлоксацин) и левомицетину.

Наибольшей резистентностью к исследуемым АБП обладали штаммы клебсиелл (*K. pneumoniae* 80, 94), выделенные из проб воды городского пляжа г. Азов. У них отмечена устойчивость к 3 и 4 антибиотикам соответственно.

Наименьшей чувствительностью исследуемые штаммы энтеробактерий обладали в отношении тетрациклинов, фосфомицина, ампициллина и нитрофурантоина, что может указывать на широкое распространение в бактериальной популяции детерминант резистентности к данным АБП. Гены устойчивости к этим АБП (*tetA/B* - тетрациклин, *fosA3* – фосфомицин, *bla<sub>TEM</sub>* – ампициллин) могут передаваться в процессе опосредованного плазмидами ГПГ (Olowe et al., 2013; Zurfluh et al., 2020). Такая картина может быть связана с широким применением данных АБП при лечении оппортунистических инфекций, в частности, мочевыводящих путей, ассоциированных с энтеробактериями.

Важным результатом является сохранение абсолютной чувствительности (100 %) колиформных бактерий, изолированных в акватории г. Ростов-на-Дону, к карбапенемам и

ингибиторзащищенным аминопенициллином. Это позволяет рассматривать карбапенемы как препараты резерва для терапии инфекций, вызванных резистентными штаммами энтеробактерий в данном регионе. Высокая чувствительность к фторхинолонам также указывает на целесообразность применения этого класса препаратов при лечении энтеробактериальных инфекций (Shrivastava et al., 2018; Tacconelli et al., 2018).

Результаты определения чувствительности *P. aeruginosa* к АБП представлены на рис 2. Абсолютная устойчивость штаммов синегнойной палочки была отмечена относительно цефтибутена, левомецетина, ко-тримоксазола, тетрациклина и доксициклина. Штамм *P. aeruginosa* 386, выделенный из воды устья р. Темерник, устойчив к действию 8 АБП. *P. aeruginosa* 485, выделенный из воды в районе речного вокзала, обладал устойчивостью к 11 АБП из 20 исследованных. Наибольшая устойчивость (12/20 АБП) выявлена для штамма *P. aeruginosa* 486, выделенного из воды р. Дон в районе речного вокзала.

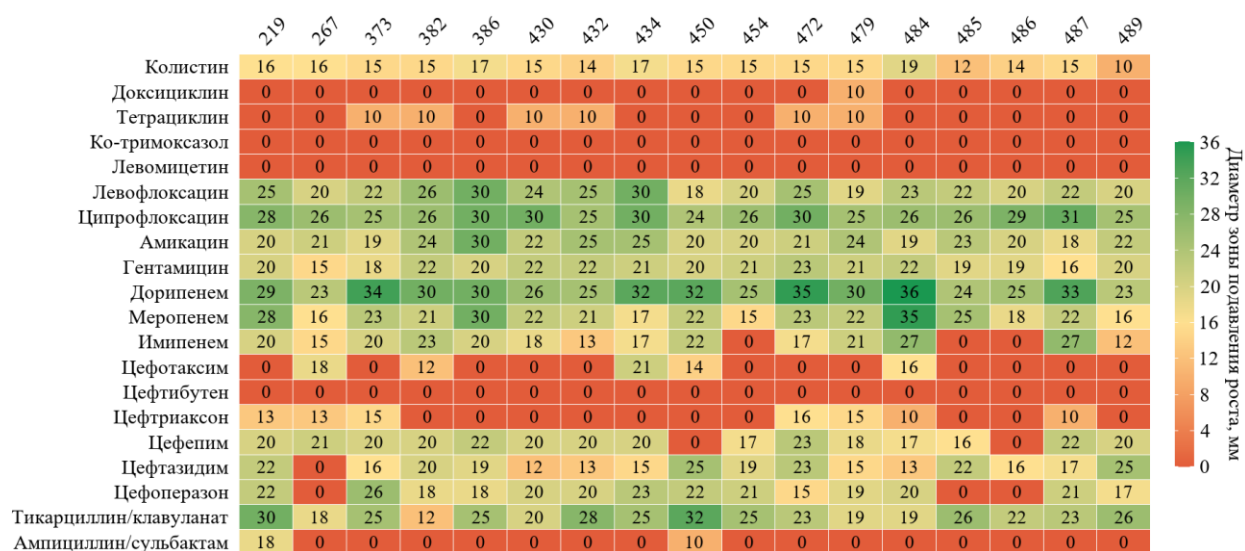


Рисунок 2. Чувствительность к антибиотикам штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из проб воды р. Дон и р. Темерник

Обнаружена устойчивость культур *P. aeruginosa* 219 и 489 к цефтибутену, цефотаксиму, левомецетину, ко-тримоксазолу, тетрациклину и доксициклину. Выявленная абсолютная устойчивость синегнойной палочки к цефтибутену, левомецетину, ко-тримоксазолу и препаратам тетрациклинового ряда (тетрациклину и доксициклину) соответствует известным характеристикам природной резистентности этого вида и отражает конститутивно экспрессируемые механизмы резистентности (Reem et al., 2024).

*P. aeruginosa* является одним из наиболее проблемных с точки зрения антибиотикорезистентности УПМ. Это обусловлено наличием множественных механизмов устойчивости, включающих сниженную проницаемость наружной мембраны из-за дефекта поринов, эффлюксное выведение АБП, продукцию инактивирующих ферментов и модификацию мишеней действия АБП (Wang и др., 2024). Кроме того, *P. aeruginosa* способен быстро приобретать новые детерминанты устойчивости благодаря высокой частоте ГПГ с участием мобильных генетических элементов (Землянко и др., 2018).

Промежуточная устойчивость выявлена у выделенных штаммов СПМ по отношению к колистину. К аминогликозидам, фторхинолонам большая часть штаммов синегнойной палочки проявила чувствительность, что является положительным результатом, т.к. эти препараты обладают выраженной эффективностью. В клинической практике России амикацин остается препаратом выбора при лечении инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, наряду с антисинегнойными бета-лактамами и фторхинолонами (Склеенова и др., 2018; Чеботарь и др., 2017). В то же время, в настоящем исследовании 4 штамма проявили устойчивость к имипенему (антисинегнойный карбапенем), который применяется при терапии нозокомиальных инфекций (Склеенова и др., 2018).

На рисунке 3 представлено действие 13 антибактериальных препаратов в отношении штаммов *Enterococcus* spp. Показана абсолютная устойчивость штаммов энтерококков к оксациллину и полимиксину. Полная чувствительность (100 % штаммов) определена в отношении бензилпенициллина, левомецетина, нитрофурантоина, линезолида и гентамицина. Результаты указывают на сохранение эффективности традиционных препаратов для лечения энтерококковых инфекций (Мартынова, Ускова, 2025).

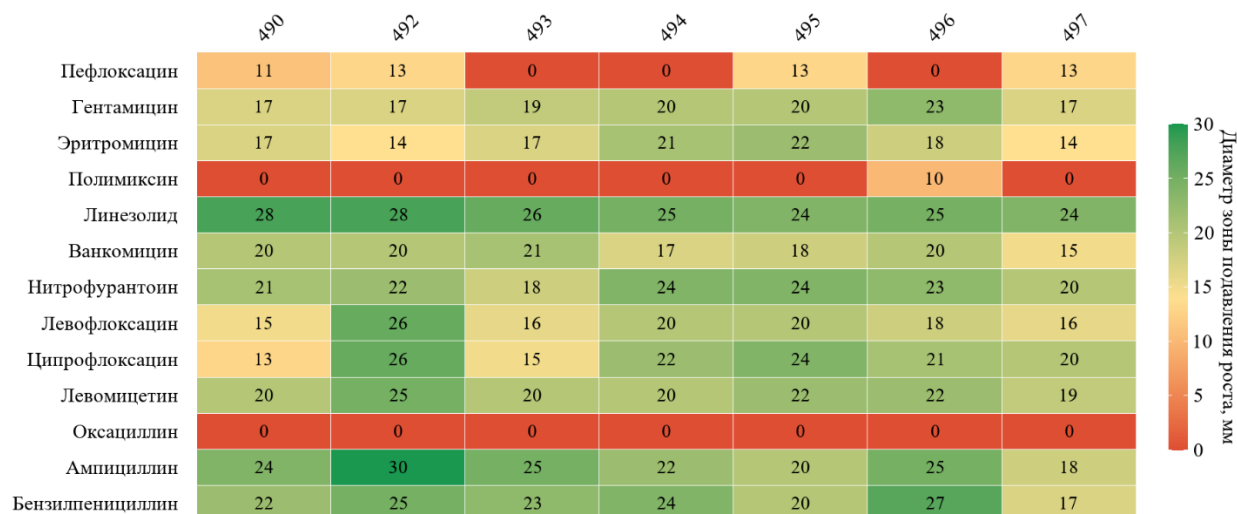


Рисунок 3. Чувствительность к антибиотикам бактерий рода *Enterococcus*, выделенных из проб воды р. Дон и р. Темерник

Штаммы *E. faecalis* 493 и 494, выделенные из проб воды на пляже г. Азов, обладали резистентностью к 31 % и 24 % исследованных АБП соответственно. Это свидетельствует о наличии в популяции штаммов с повышенной устойчивостью. Энтерококки служат важными индикаторами фекального загрязнения водных объектов и антропогенного воздействия на водную среду (Седова, Морозова, 2023).

На основании данных о фенотипической резистентности, был рассчитан индекс множественной антибиотикорезистентности (MAR), результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1. Результаты определения индекса множественной антибиотикорезистентности (MAR)

Микроорганизм	Среднее значение MAR, $M \pm m$	Максимальное значение MAR	Категория
<i>P. aeruginosa</i>	$0.47 \pm 0.03$	0.65	MDR
<i>Enterococcus spp.</i>	$0.20 \pm 0.03$	0.31	не-MDR
<i>Enterobacteriaceae</i>	$0.12 \pm 0.01$	0.20	не-MDR

Использование индекса множественной антибиотикорезистентности (MAR) в данном исследовании позволило оценить уровень лекарственной устойчивости среди исследованных водных штаммов СПМ и УПМ. Выявлено, что синегнойные палочки обладали индексом MAR > 0.5, что указывает на множественную лекарственную устойчивость (MDR) водных штаммов

*P. aeruginosa*. Этот показатель широко применяется в международной практике для мониторинга антибиотикорезистентности и оценки загрязнения водоисточников антибиотикорезистентными патогенами (Mir et al., 2022). В то же время представители семейства *Enterobacteriaceae* и энтерококки характеризовались более низким средним значением MAR < 0.20, что характеризует их как не-MDR популяцию. Вызывает беспокойство циркуляция MDR-штаммов синегнойных палочек в объектах водной среды, имеющих этиологическое значение в возникновении оппортунистических инфекций, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью.

### АРГ и интегроны

Кроме определения профиля фенотипической устойчивости бактерий к АБП, также было определено количественное содержание генов антибиотикорезистентности и интегронов у исследованных штаммов. Результаты количественного определения содержания интегронов показали, что наиболее часто выявлялись интегроны 1 и 3 классов (*int11*, *int13*), а *int12* реже и с наименьшим относительным содержанием. Интегроны 1 класса были обнаружены в 100% исследованных штаммов бактерий. В ДНК бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон в акватории г. Азов (рис. 4) АРГ обнаруживались со следующей частотой: *aadA2* > *bla<sub>VIM</sub>* > *tetO* > *ermB* > *bla<sub>CTX-M</sub>* > *vanA* > *sul2* > *mphA* > *mecA*. Ген устойчивости к метициллину (*mecA*) был выявлен только у одного штамма клебсиеллы с низким относительным содержанием  $3.37 \times 10^{-7}$  копий АРГ/*16SrRNA*. Этот результат свидетельствует о том, что метициллин-резистентность не является характерной для исследованных водных популяций энтеробактерий, что соответствует ожиданиям, поскольку *mecA* ассоциирован преимущественно с клиническими штаммами *Staphylococcus aureus* и реже встречается среди грамотрицательных бактерий (Leonard, Markey, 2008).

Несмотря на то, что показатели фенотипической устойчивости энтерококков в целом ниже таковых у исследованных энтеробактерий и синегнойной палочки, показатели относительного содержания выявленных АРГ имели максимальные значения: *sul2* ( $3.93 \times 10^{-2}$ ), *bla<sub>CTX-M</sub>* ( $6.35 \times 10^{-3}$ ), *tetO* ( $5.05 \times 10^{-3}$ ), *mphA* ( $8.50 \times 10^{-4}$ ), *vanA* ( $7.24 \times 10^{-4}$ ), *ermB* ( $4.11 \times 10^{-4}$ ), *mecA* ( $1.61 \times 10^{-4}$ ). Это указывает на то, что штаммы *E. faecalis* в зонах рекреации могут выступать основными резервуарами и переносчиками АРГ в водной среде среди исследованных УПМ.

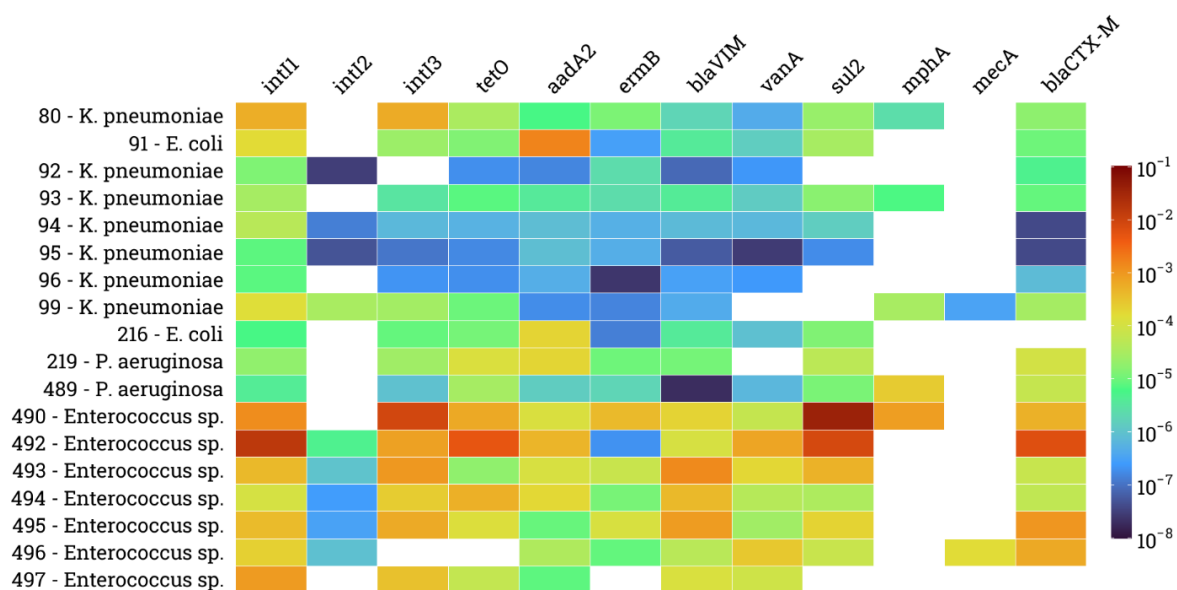


Рисунок 4. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон в акватории г. Азов (копии АРГ/*16S rRNA*)

Определение АРГ в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон и Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону, показало, что наиболее высокие показатели относительного содержания отмечены для *aadA2* и *tetO* ( $1.27 \times 10^{-3}$ ,  $1.58 \times 10^{-3}$  соответственно) (рис. 5).

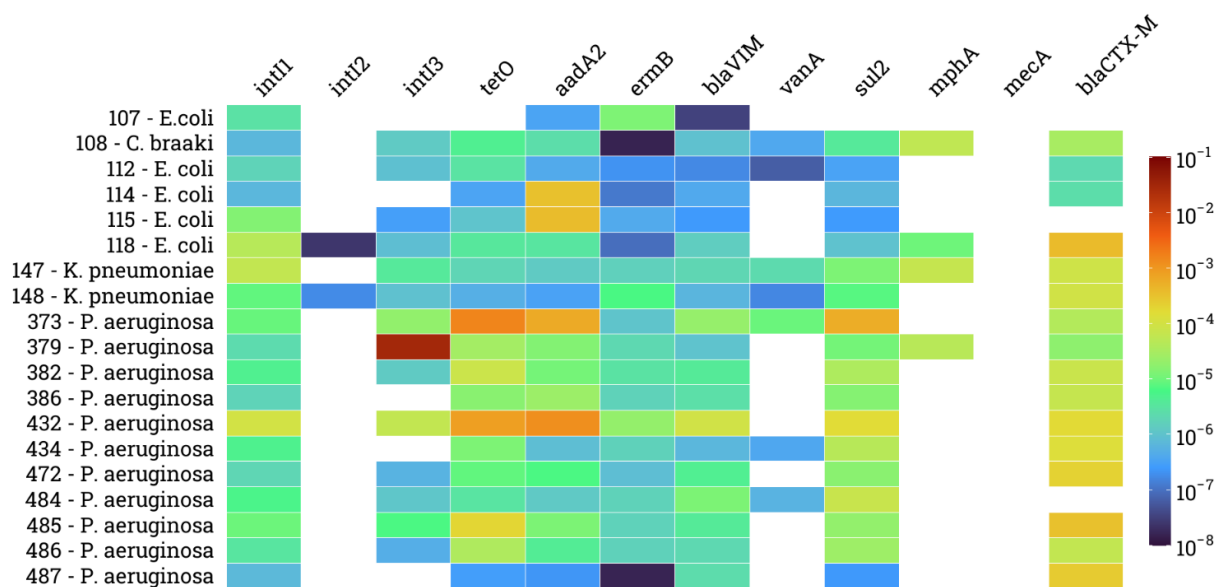


Рисунок 5. Содержание АРГ и генов интеграз 1-3 классов в штаммах бактерий, выделенных из образцов воды р. Дон и р. Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону

(копии АРГ/*I6SrRNA*)

АРГ обнаруживались со следующей частотой: *aadA2* > *bla<sub>VIM</sub>* > *ermB* > *tetO* > *sul2* > *bla<sub>CTX-M</sub>* > *vanA* > *mphA*. Ген *mecA* не выявлялся в данной выборке. Гены интеграз 1 (*intI1*) класса встречались во всех образцах, а максимальное содержание выявлено для *intI3* –  $3.14 \times 10^{-2}$ ; *intI3* встречался в 2 штаммах энтеробактерий (*E. coli* 118, *K. pneumoniae* 148) и имел низкие количественные показатели.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о повсеместном распространении исследованных АРГ в пробах воды р. Дон и р. Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону и г. Азов. Во всех образцах воды были обнаружены все изученные АРГ. Наиболее часто у исследованных штаммов в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов встречались гены *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *aadA2* и интегроны *intI1*, с меньшей частотой – *intI2* и *mecA*.

Штаммы с наименьшим распространением генов устойчивости к АБП были выделены из проб воды, отобранных в зонах рекреации обоих городов. Максимальный спектр генов устойчивости к антибиотикам среди исследованных образцов воды рек в акватории г. Ростов-на-Дону и Азов был обнаружен у культур энтерококков, выделенных из воды на пляже г. Азов.

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*), сульфониламидам (*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 быть 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, также отмечается широкое распространение генов *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *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).

## Взаимосвязь между фенотипической резистентностью, содержанием АРГ и интегронов

Между 6 АРГ (*bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *aadA2*, *tetO*, *mecA*, *vanA*) и 13 исследуемыми АБП (ампициллин, цефоперазон, цефтазидим, цефепим, имепенем, меропенем, бензилпенициллин, колистин, тетрациклин, доксициклин, амикацин, амоксициллин, цефотаксим) определялась корреляция Пирсона содержания АРГ и диаметром зоны подавления роста у исследованных бактерий. Рассчитывалась корреляция между АБП колистином и количеством копий гена резистентности *vanA*, амикацином и *aadA2*, тетрациклином/доксициклином и геном *tetO*. Значимая положительная корреляция отмечена между АБП колистином и количеством копий гена резистентности *vanA* (0.715034965,  $p < 0.05$ ), а также между *tetO*/тетрациклином (0.464052169) и *tetO*/доксициклином (0.575073388). Ген *vanA* традиционно ассоциируется с резистентностью к ванкомицину у грамположительных бактерий, однако его взаимосвязь с полимиксинами может отражать ко-селекцию с АРГ устойчивости к колистину (*mcr*) под давлением антибиотиков или физическую связь генетических элементов на МГЭ (Liu et al., 2016; Tuo et al., 2018; Zhong et al., 2018).

Взаимосвязи между *aadA2* и амикацином не выявлено. Вероятно, фенотипическая резистентность к антибиотикам определяется другими типами АРГ (*aac*, *aph*, *ant*). Кроме того, экспрессия *aadA2* может быть подавлена в отсутствие индуцирующих условий, а диско-диффузионный метод определения чувствительности может не отражать субингибиторные эффекты, которые проявляются при количественном определении минимальной подавляющей концентрации в жидких средах (Abdelaziz et al., 2021).

Также была определена корреляция Пирсона между числом копий генов *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>* и бензилпенициллином, ампициллином, цефоперазоном, цефтазидимом, цефепимом, имепенемом и меропенемом. Положительная взаимосвязь отмечена между *bla<sub>VIM</sub>* и ампициллином (0.519786603).

Определение роли ГПГ в интегрон-опосредованном распространении АРГ определялось с помощью корреляции Спирмена между содержанием АРГ и генов интеграз (табл. 2).

Таблица 2. Оценка взаимосвязи содержания АРГ с генами интеграз 3 классов с помощью ранговой корреляции Спирмена

Ген интегразы	АРГ	Значение коэффициента	p-value	Критерии интерпретации
---------------	-----	-----------------------	---------	------------------------

		корреляции Спирмена ( $\rho$ )		
Реки Дон и Темерник в акватории г. Ростов-на-Дону и Азов				
<i>intI1</i>	<i>vanA</i>	0.590126	0.000006	Умеренная положительная значимая корреляция
	<i>bla<sub>VIM</sub></i>	0.498584	0.012038	
	<i>sul2</i>	0.476497	0.014869	
	<i>ermB</i>	0.405405	0.044327	
<i>intI2</i>	<i>mecA</i>	0.456569	0.017301	
<i>intI3</i>	<i>tetO</i>	0.743529	0.001841	Положительная сильная значимая корреляция
	<i>bla<sub>VIM</sub></i>	0.580732	0.001841	Умеренная положительная значимая корреляция
	<i>sul2</i>	0.560556	0.002543	
	<i>aadA2</i>	0.457766	0.017301	
	<i>sul2</i>	0.6994	0.0131	

Выявлены сильные положительные корреляции между геном устойчивости к тетрациклам (*tetO*) и интегроном 3 типа. Гены устойчивости *vanA*, *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2* и *ermB* имели умеренную положительную значимую корреляцию с *intI1*. 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). Статистически значимые положительные корреляции включали взаимосвязи между *intI2* и *mecA*, а *intI3* с *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2*, *aadA2*. Таким образом, *sul2* и *bla<sub>VIM</sub>* имели по 2 корреляции с интегронами. 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.

## Заключение

Проведенный анализ резистома условно-патогенных бактерий, выделенных из вод рек Дон и Темерник, показал высокую распространенность антибиотикорезистентных штаммов. Высокие значения MAR-индекса синегнойных палочек, а также выявление широкого спектра

АРГ указывают на существенное антропогенное давление антибиотиков в исследованных водных экосистемах. Обнаруженные статистически значимые положительные корреляции между количеством копий отдельных АРГ (*vanA*, *tetO*, *bla<sub>VM</sub>*) и фенотипической устойчивостью к соответствующим АБП подтверждают функциональную значимость этих генов в формировании резистентности. Связи между АРГ и интегронами подчеркивают ключевую роль интегрон-опосредованной горизонтальной передачи антибиотикорезистентности в микробиомах экосистем поверхностных водоемов.

### **Благодарности и финансирование**

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2026-0025.

### **Список литературы**

Ажогина Т. Н., Воропина Д. С., Хмелевцова Л. Е., Лицевич А. Р., Чернышенко Е. Р. Гены антибиотикорезистентности и бактериоценоз донных отложений озера Маныч-Гудило // «Живые и биокосные системы». 2024. № 50. URL: <https://jbks.ru/archive/issue-50/article-1> (дата обращения: 2.12.2025).

Ажогина Т. Н., Сазыкина М. А. Оценка содержания генов антибиотикорезистентности в почвах г. Ростова-на-Дону // Международный научно-исследовательский журнал. 2022. №. 7–2 (121). С. 84-86.

Землянко О. М., Рогоза Т. М., Журавлева Г. А. Механизмы множественной устойчивости бактерий к антибиотикам // Экологическая генетика. 2018. Т.16. № 3. С. 4-17.

Мартынова А. В., Ускова С. С. Устойчивость бактерий рода *Enterococcus* к антибиотикам и дезинфицирующим веществам (обзор литературы) // Тихоокеанский медицинский журнал. 2025. № 1. С. 22-26.

Патент RU 2696052 С1. С12N 15/10. Способ выделения ДНК из почвы / Сазыкина М. А., Сазыкин И. С., Селиверстова Е. Ю., Хмелевцова Л. Е.; заявитель и патентообладатель ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет». – № 2018140149; заявл. 13.11.2018; опубл. 30.07.2019. – Бюл. № 22. – 13 с.

Седова Д. А., Морозова М. А. Обнаружение мультирезистентных штаммов энтерококков в сточных водах Ростовской области // Биодиагностика состояния природных и природно-

техногенных систем: материалы XXI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Киров: ВГУ, 2023. С. 264–268.

Склеенова Е. Ю., Азизов И. С., Шек Е. А., Эйдельштейн М. В., Козлов Р. С., Дехнич А. В., *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов // «Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия». 2018. № 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pseudomonas-aeruginosa-v-rf-istoriya-odnogo-iz-naibolee-uspeshnyh-nozokomialnyh-patogenov> (дата обращения: 2.12.2025).

Чеботарь И. В., Бочарова Ю. А., Маянский Н. А. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т. 19. № 4. С. 308-319.

Чеботарь И. В., Поликарпова С. В., Бочарова Ю. А., Маянский Н. А. Использование времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для идентификации бактериальных и грибковых возбудителей III-IV групп патогенности // Лабораторная служба. 2018. № 7. С. 78-86.

Abdelaziz S. M., Aboshanab K. M., Yahia I. S., Yassien M. A., Hassouna, N. A. Correlation between the Antibiotic Resistance Genes and Susceptibility to Antibiotics among the Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens // Antibiotics (Basel). 2021. V. 10. № 3. Article No. 255.

Bhat B. A., Mir R. A., Qadri H., Dhiman R., Almilaibary A., Alkhanani M., Mir M. A. Integrins in the development of antimicrobial resistance: critical review and perspectives // Frontiers in Microbiology. 2023. V. 14. Article No. 1231938.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. – URL: <https://www.eucast.org> (accessed: 12.12.2024)

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations Publ., 2022. P. 266.

Jampani M., Gothwal R., Mateo-Sagasta J., Langan S. Water quality modelling framework for evaluating antibiotic resistance in aquatic environments // Journal of Hazardous Materials Letters. 2022. V. 3. Article No. 100056.

Larsson D. G. J., Flach C. F. Antibiotic resistance in the environment // Nat. Rev. Microbiol. 2022. V. 20. P. 257-269.

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

Liu Y. Y., Wang Y., Walsh T. R., Yi L. X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Dong B., Huang

- X., et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study // *The Lancet Infectious Diseases*. 2016. V. 16. № 2. P. 161-168.
- Matlou D. P., Bissong M. E. A., Tchatchouang C. D. K., Adem M. R., Foka F. E. T., Kumar A., & Ateba C. N. 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 // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. V. 26. P. 15105-15114.
- Mir R., Salari S., Najimi M., Rashki A. Determination of frequency, multiple antibiotic resistance index and resistotype of *Salmonella* spp. in chicken meat collected from southeast of Iran // *Veterinary Medicine and Science*. 2022. V. 8. № 1. P. 229–236.
- Moghaddam M. N., Beidokhti M. H., Jamehdar S. A., Ghahraman M. Genetic properties of *bla*<sub>CTX-M</sub> and *bla*<sub>PER</sub>  $\beta$ -lactamase genes in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* by polymerase chain reaction // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2014. V. 17. № 5. P. 378-383.
- Mirzaie S., Faghiri I., Askari Badouei M., Madani S.A. Molecular detection and occurrence of vancomycin resistance genes (*vanA*, B, C1, C2/C3) among *Enterococcus* species isolated from farm ostriches // *Veterinary Medicine and Science*. 2023. V. 9. № 1. P. 226-233.
- Moosavian M., Ghadri H., Samli Z. Molecular detection of *vanA* and *vanB* genes among vancomycin-resistant enterococci in ICU-hospitalized patients in Ahvaz in southwest of Iran // *Infection and Drug Resistance*. 2018. V. 11. P. 2269–2275.
- Namatovu A., Vahwere B. M., Ntulume I., Ssebuufu R., Nalubega R., Pius T., Sikakulya F. K., Agaba G., Seremba E., Kyamanywa P., & Nasinyama G. W. Antimicrobial resistance profiles and detection of *mecA*, *bla*<sub>CTX-M-1</sub>, and *bla*<sub>SHV</sub> genes in bacteria among diabetic foot ulcer patients from selected referral hospitals in Uganda // *BMC Infectious Diseases*. 2025. V. 25. № 1. Article No. 1498.
- Numberger D., Ganzert L., Zoccarato L., Mühldorfer K., Sauer S., Grossart H.-P., Greenwood A. D. Characterization of bacterial communities in wastewater with enhanced taxonomic resolution by full-length 16S rRNA sequencing // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. Article No. 9673.
- Olowe O. A., Idris O. J., Taiwo S. S. Prevalence of tet genes mediating tetracycline resistance in *Escherichia coli* clinical isolates in Osun State, Nigeria // *European Journal of Microbiology & Immunology*. 2013. V. 3. № 2. P. 135–140.
- Qiu X., Zhang H., Jiang M., Wu Q., Li Q., & Wu G. Distribution characteristics of integrons and correlation analysis of antibiotic resistance in urine isolated *Enterobacter cloacae* // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024. V. 14. Article No. 1462742.

Reem A., Almansoob S., Senan A. M., Kumar Raj A., Shah R., Kumar Shrewastwa M., & Kumal J. P. P. *Pseudomonas aeruginosa* and related antibiotic resistance genes as indicators for wastewater treatment // *Heliyon*. 2024. V. 10. № 9. e29798.

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

Shrivastava S. R., Shrivastava P. S., Ramasamy J. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics // *Journal of Medical Society*. 2018. V. 32. № 1. P. 76–77.

Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet D. L., Pulcini C., Kahlmeter G., Kluytmans J., Carmeli Y., et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis // *The Lancet Infectious Diseases*. 2018. V. 18. № 3. P. 318–327.

Tuo H., Yang Y., Tao X., Liu D., Li Y., Xie X., Li P., Gu J., Kong L., Xiang R., et al. Resistant Strains and Antibiotic Resistance Gene Profiles in Funan River, China // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. Article No. 3094.

Wang Z., Cai M., Du P., Li X. Wastewater surveillance for antibiotics and resistance genes in a river catchment: spatiotemporal variations and the main drivers // *Water Research*. 2024. V. 251. Article No. 121090.

Xu C., Lv Z., Shen Y., Liu D., Fu Y., Zhou L., Liu W., Chen K., Ye H., Xia X., et al. Metagenomic insights into differences in environmental resistome profiles between integrated and monoculture aquaculture farms in China // *Environment International*. 2020. V. 144. Article No. 106005.

Zhong L. L., Phan H. T. T., Shen C., Vihta K. D., Sheppard A. E., Huang X., Zeng K. J., Li H. Y., Zhang X. F., Patil S., et al. High rates of human fecal carriage of *mcr-1*-positive multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* emerge in China in association with successful plasmid families // *Clinical Infectious Diseases*. 2018. V. 66. № 5. P. 676–685.

Zhu C., Wu L., Ning D., Tian R., Gao S., Zhang B., Zhao J., Zhang Y., Xiao N., Wang Y., et al. Global diversity and distribution of antibiotic resistance genes in human wastewater treatment systems // *Nature Communications*. 2025. V. 16. Article No. 4006.

Zurfluh K., Treier A., Schmitt K., Stephan R. Mobile fosfomycin resistance genes in *Enterobacteriaceae* – An increasing threat // *MicrobiologyOpen*. 2020. V. 9. № 12. e1135.

## References

Azhogina T. N., Voropina D.S., Khmelevtsova L.E., Litsevich A.L., Chernyshenko E.R. Antibiotic resistance genes and bacteriocenosis of Manych-Gudilo Lake bottom sediments // Live and bio-abiotic systems. 2024. No. 50. URL: <https://jbks.ru/archive/issue-50/article-1> (accessed: 2.12.2025). (in Rus).

Azhogina T. N., Sazykina M. A. Assessment of antibiotic resistance genes content in soils of Rostov-on-Don // International Research Journal. 2022. No. 7–2 (121). P. 84-86. (in Rus).

Zemlyanko O. M., Rogoza T. M., Zhouravleva G. A. Mechanisms of bacterial multiresistance to antibiotics // Ecological genetics. 2018. Vol. 16. No. 3. P. 4-17. (in Rus).

Martynova A. V., Uskova S. S. Resistance of Enterococcus bacteria to antibiotics and disinfectants (literature review) // Tikhookeanskii meditsinskii zhurnal. 2025. No. 1. P. 22-26. (in Rus).

Patent RU 2696052 C1. C12N 15/10. Method for isolating DNA from soil / Sazykina M. A., Sazykin I. S., Seliverstova E.Yu., Khmelevtsova L.E.; applicant and patent holder: Southern Federal University. No. 2018140149; filed 13.11.2018; published 30.07.2019 / 13 p. (in Rus).

Sedova D.A., Morozova M.A. Detection of multidrug-resistant enterococci strains in wastewater of Rostov Region // Biodiagnostics of the state of natural and natural-technogenic systems: Proceedings of the XXI All-Russian scientific and practical conference with international participation. Kirov: VGU, 2023. P. 264-268 (in Rus).

Skleenova E. Yu., Azizov I. S., Shek E. A., Eidelshstein M. V., Kozlov R. S., Dekhnich A. V. *Pseudomonas aeruginosa* in the Russian Federation: a history of one of the most successful nosocomial pathogens // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2018. No. 3. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pseudomonas-aeruginosa-v-rf-istoriya-odnogo-iz-naibolee-uspeshnyh-nozokomialnyh-patogenov> (accessed: 2.12.2025) (in Rus).

Chebotar I. V., Bocharova Yu. A., Mayanskii N. A. Mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotics and their regulation // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017. Vol. 19. No. 4. P. 308–319 (in Rus).

Chebotar I. V., Polikarpova S. V., Bocharova Yu. A., Mayanskii N.A. Use of MALDI-TOF MS for identification of bacterial and fungal pathogens of hazard groups III–IV // Laboratory Service. 2018. No.7. P. 78-86. (in Rus).

Abdelaziz S. M., Aboshanab K. M., Yahia I. S., Yassien M. A., Hassouna, N. A. Correlation between the Antibiotic Resistance Genes and Susceptibility to Antibiotics among the Carbapenem-Resistant Gram-Negative Pathogens // Antibiotics (Basel). 2021. V. 10. № 3. Article No. 255.

Седова Д. А., Егорова Е. А., Сазыкина М. А., Журавлев П. В., Хмелевцова Л. Е., Ажогина Т. Н., Березинская И. С., Сазыкин И. С., Оценка резистоста условно-патогенных бактерий, выделенных из воды рек Дон и Темерник в акватории городов Ростов-на-Дону и Азов // «Живые и биокосные системы». – 2025. – № 54; URL: <https://jbks.ru/archive/issue-54/article-11>; DOI: 10.18522/2308-9709-2025-54-11

Bhat B. A., Mir R. A., Qadri H., Dhiman R., Almilaibary A., Alkhanani M., Mir M. A. Integrins in the development of antimicrobial resistance: critical review and perspectives // *Frontiers in Microbiology*. 2023. V. 14. Article No. 1231938.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 9.0, 2019. – URL: <https://www.eucast.org> (accessed: 12.12.2024)

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations Publ., 2022. P. 266.

Jampani M., Gothwal R., Mateo-Sagasta J., Langan S. Water quality modelling framework for evaluating antibiotic resistance in aquatic environments // *Journal of Hazardous Materials Letters*. 2022. V. 3. Article No. 100056.

Larsson D. G. J., Flach C. F. Antibiotic resistance in the environment // *Nat. Rev. Microbiol.* 2022. V. 20. P. 257-269.

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

Liu Y. Y., Wang Y., Walsh T. R., Yi L. X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Dong B., Huang X., et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study // *The Lancet Infectious Diseases*. 2016. V. 16. № 2. P. 161-168.

Matlou D. P., Bissong M. E. A., Tchatchouang C. D. K., Adem M. R., Foka F. E. T., Kumar A., & Ateba C. N. 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 // *Environmental Science and Pollution Research*. 2019. V. 26. P. 15105-15114.

Mir R., Salari S., Najimi M., Rashki A. Determination of frequency, multiple antibiotic resistance index and resistotype of *Salmonella* spp. in chicken meat collected from southeast of Iran // *Veterinary Medicine and Science*. 2022. V. 8. № 1. P. 229–236.

Moghaddam M. N., Beidokhti M. H., Jamehdar S. A., Ghahraman M. Genetic properties of *bla*<sub>CTX-M</sub> and *bla*<sub>PER</sub> β-lactamase genes in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* by polymerase chain reaction // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 2014. V. 17. № 5. P. 378-383.

Mirzaie S., Faghiri I., Askari Badouei M., Madani S.A. Molecular detection and occurrence of vancomycin resistance genes (*vanA*, B, C1, C2/C3) among *Enterococcus* species isolated from farm ostriches // *Veterinary Medicine and Science*. 2023. V. 9. № 1. P. 226-233.

- Moosavian M., Ghadri H., Samli Z. Molecular detection of *vanA* and *vanB* genes among vancomycin-resistant enterococci in ICU-hospitalized patients in Ahvaz in southwest of Iran // *Infection and Drug Resistance*. 2018. V. 11. P. 2269–2275.
- Namatovu A., Vahwere B. M., Ntulume I., Ssebuufu R., Nalubega R., Pius T., Sikakulya F. K., Agaba G., Seremba E., Kyamanywa P., & Nasinyama G. W. Antimicrobial resistance profiles and detection of *mecA*, *bla<sub>CTX-M-1</sub>*, and *bla<sub>SHV</sub>* genes in bacteria among diabetic foot ulcer patients from selected referral hospitals in Uganda // *BMC Infectious Diseases*. 2025. V. 25. № 1. Article No. 1498.
- Numberger D., Ganzert L., Zoccarato L., Mühlendorfer K., Sauer S., Grossart H.-P., Greenwood A. D. Characterization of bacterial communities in wastewater with enhanced taxonomic resolution by full-length 16S rRNA sequencing // *Scientific Reports*. 2019. V. 9. Article No. 9673.
- Olowe O. A., Idris O. J., Taiwo S. S. Prevalence of tet genes mediating tetracycline resistance in *Escherichia coli* clinical isolates in Osun State, Nigeria // *European Journal of Microbiology & Immunology*. 2013. V. 3. № 2. P. 135–140.
- Qiu X., Zhang H., Jiang M., Wu Q., Li Q., & Wu G. Distribution characteristics of integrons and correlation analysis of antibiotic resistance in urine isolated *Enterobacter cloacae* // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024. V. 14. Article No. 1462742.
- Reem A., Almansoob S., Senan A. M., Kumar Raj A., Shah R., Kumar Shrewastwa M., & Kumal J. P. P. *Pseudomonas aeruginosa* and related antibiotic resistance genes as indicators for wastewater treatment // *Heliyon*. 2024. V. 10. № 9. e29798.
- Samy S. Mechanisms of gram-positive vancomycin resistance // *The Clinical Biochemist Reviews*. 2021. № 7.
- Shrivastava S. R., Shrivastava P. S., Ramasamy J. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics // *Journal of Medical Society*. 2018. V. 32. № 1. P. 76–77.
- Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet D. L., Pulcini C., Kahlmeter G., Kluytmans J., Carmeli Y., et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis // *The Lancet Infectious Diseases*. 2018. V. 18. № 3. P. 318–327.
- Tuo H., Yang Y., Tao X., Liu D., Li Y., Xie X., Li P., Gu J., Kong L., Xiang R., et al. Resistant Strains and Antibiotic Resistance Gene Profiles in Funan River, China // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. Article No. 3094.

Wang Z., Cai M., Du P., Li X. Wastewater surveillance for antibiotics and resistance genes in a river catchment: spatiotemporal variations and the main drivers // *Water Research*. 2024. V. 251. Article No. 121090.

Xu C., Lv Z., Shen Y., Liu D., Fu Y., Zhou L., Liu W., Chen K., Ye H., Xia X., et al. Metagenomic insights into differences in environmental resistome profiles between integrated and monoculture aquaculture farms in China // *Environment International*. 2020. V. 144. Article No. 106005.

Zhong L. L., Phan H. T. T., Shen C., Vihta K. D., Sheppard A. E., Huang X., Zeng K. J., Li H. Y., Zhang X. F., Patil S., et al. High rates of human fecal carriage of *mcr-1*-positive multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* emerge in China in association with successful plasmid families // *Clinical Infectious Diseases*. 2018. V. 66. № 5. P. 676–685.

Zhu C., Wu L., Ning D., Tian R., Gao S., Zhang B., Zhao J., Zhang Y., Xiao N., Wang Y., et al. Global diversity and distribution of antibiotic resistance genes in human wastewater treatment systems // *Nature Communications*. 2025. V. 16. Article No. 4006.

Zurfluh K., Treier A., Schmitt K., Stephan R. Mobile fosfomycin resistance genes in *Enterobacteriaceae* – An increasing threat // *MicrobiologyOpen*. 2020. V. 9. № 12. e1135.

## RESISTOME ANALYSIS OF THE OPPORTUNISTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE DON AND TEMERNIK RIVERS IN THE WATERS OF ROSTOV-ON-DON AND AZOV

Sedova D. A.<sup>1,2\*</sup>, Egorova E. A.<sup>1</sup>, Sazykina M. A.<sup>1</sup>, Zhuravlev P.V.<sup>3</sup>, Khmelevtsova L. E.<sup>1</sup>,

Azhogina T. N.<sup>1</sup>, Berezinskaya I. S.<sup>4</sup>, Sazykin I. S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>2</sup>*Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>3</sup>*Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia*

<sup>4</sup>*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology, Rostov-on-Don, Russia*

dased0va@yandex.ru\*

pitthegreat@yandex.ru

samara@sfedu.ru

nice.puchkina@mail.ru

tazhogina@sfedu.ru

aleshukina@yandex.ru

issa@sfedu.ru

ORCID: (0000-0003-1194-7251, 0000-0002-8196-3882, 0000-0001-6974-3361, 0009-0007-3438-4515, 0000-0003-0274-783X, 0000-0001-7503-0608, 0000-0002-0864-1473)

### Annotation

Antibiotic resistance of opportunistic waterborne bacteria represents a significant threat to public health, as microbial communities of aquatic ecosystems act both as a reservoir and a potential source of dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs). The aim of this study was to analyze phenotypic resistance and to detect ARGs in opportunistic microorganisms isolated from the waters of the Don and Temernik rivers within the water area of the cities of Rostov-on-Don and Azov. Since the spread of ARGs is associated with mobile genetic elements (MGEs), genes encoding class 1, 2 and 3 integrases (*intI1*, *intI2*, *intI3*) were determined in the bacterial genomic DNA. Strains of *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* and *Citrobacter braakii* were isolated from the water samples. Antimicrobial susceptibility testing showed that the highest multiple antibiotic resistance (MAR) index was observed in *P. aeruginosa* strains, followed by *Enterococcus spp.* and Enterobacteriaceae family species. Copy numbers of antibiotic resistance genes (*bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *mecA*, *vanA*, *tetO*, *ermB*, *mphA*, *sul2*, *aadA2*) and integrase genes were quantified by real-time PCR. The most frequently detected genes with increased

relative abundance were *sul2*, *blaCTX-M*, *tetO* and *aadA2*, as well as class 1 integrons. Genes conferring resistance to methicillin (*mecA*) and macrolides (*mphA*) showed a low prevalence among the studied bacteria. Significant positive correlations were found between the relative abundance of *vanA* and resistance to colistin, between *tetO* and resistance to tetracycline and doxycycline, and between *bla<sub>VIM</sub>* and resistance to ampicillin. The resistance genes *vanA*, *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2* and *ermB* showed a significant positive correlation with *intI1*, *mecA* correlated with *intI2*, and *intI3* correlated with *bla<sub>VIM</sub>*, *sul2* and *aadA2*, which may indicate an important role of MGEs, in particular integrons, in the horizontal transfer of these ARGs.

## Keywords

Antibiotic resistance, antibiotic-resistant bacteria, antibiotic resistance genes, *Klebsiella pneumoniae*, coliform bacteria, *Pseudomonas aeruginosa*.

Статья поступила в редакцию 5 декабря 2025 г.

Поступила после доработки 9 декабря 2025 г.

Принята к печати 24 декабря 2025 г.

Received 5, December, 2025

Revised 9, December, 2025

Accepted 25, December, 2025