

Влияние поллютантов на распространение генов устойчивости к антибиотикам в окружающей среде

© 2020. Т. Н. Ажогина¹, аспирант, м. н. с.,

С. Г. Скугорева², к. б. н., н. с.,

А. А. К. Аль-Раммахи³, аспирант, Н. В. Гненная¹, магистр,

М. А. Сазыкина¹, д. б. н., в. н. с., профессор,

И. С. Сазыкин¹, к. б. н., в. н. с.,

¹Южный федеральный университет,

344090, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194/2,

²Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

³Технический университет им. Аль-Фурата Аль-Авсата,

54003, Ирак, г. Наджаф, ул. Хилла, д. 70,

e-mail: tazhogina@sfedu.ru, skugoreva@mail.ru, ameer.iraq1982@gmail.com,

gnennaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru, issa@sfedu.ru

Развитие бактерий, устойчивых к антибиотикам (АБ), является одной из наиболее значительных проблем в современной медицине и представляет серьёзную угрозу для здоровья человека. Изучение влияния различных химических соединений на диссеминацию генов антибиотикорезистентности (АРГ) у бактерий крайне важно для контроля распространения резистентности как в клинических условиях, так и природных микробиомах. Загрязнение окружающей среды различными поллютантами способствует распространению антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) и АРГ в микробных сообществах окружающей среды. В данном обзоре проанализировано современное состояние исследований, оценивающих влияние различных поллютантов на распространение генов антибиотикоустойчивости в природных микробиоценозах. Антибиотики и тяжёлые металлы способствуют распространению АРГ и селекции штаммов, обладающих лекарственной устойчивостью. В ряде работ последних лет показано, что диссеминация АРГ и АРБ способствует также масса других, в том числе слабо изученных, поллютантов. Для таких загрязнителей, как полициклические ароматические углеводороды и пестициды в обзоре рассматриваются возможные механизмы, способствующие распространению резистентности к антибиотикам. Влияние микропластика исследовано недостаточно, но за счёт сорбции других поллютантов он, вероятно, может способствовать распространению АРГ.

Ключевые слова: гены антибиотикорезистентности; бактерии, резистентные к антибиотикам; загрязняющие вещества; полициклические ароматические углеводороды; природные микробиомы; распространение резистентности.

Influence of pollutants on the spread of antibiotic resistance genes in the environment

© 2020. Т. Н. Azhogina¹ ORCID: 0000-0003-0274-783X, S. G. Skugoreva² ORCID: 0000-0003-2371-4949,

A. A. K. Al-Rammahi³ ORCID: 0000-0002-6314-6416, N. V. Gnennaya¹ ORCID: 0000-0002-3691-3317,

M. A. Sazykina¹ ORCID: 0000-0001-6974-3361, I. S. Sazykin¹ ORCID: 0000-0002-0864-1473,

¹Southern Federal University,

194/2, Stachki Prospekt, Rostov-on-Don, Russia, 344090,

²Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of RAS,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

³Technical University Al-Furat Al-Awsat,

70, Hill St., Najaf, Iraq, 54003,

e-mail: tazhogina@sfedu.ru, skugoreva@mail.ru, ameer.iraq1982@gmail.com,

gnennaya@sfedu.ru, samara@sfedu.ru, issa@sfedu.ru

genes can be carried by uncultivated bacteria. It has been shown that introduction of pollutants into the environment contributes to the active selection of ARB and antibiotic-resistance genes (ARG). Antibiotics stimulate reproduction of ARB and selection of ARG. Resistance to heavy metals and antibiotics is achieved by the same mechanisms, which leads to the selection of ARG in environments contaminated with heavy metals. Bacteria can decompose polyaromatic hydrocarbons (PAH) or use them as a source of nutrients. Bacteria that are unable to decompose PAHs to fewer toxic products use various mechanisms to remove polyaromatic hydrocarbons from cells. Thus, with the help of efflux pumps, not only PAHs can be removed from cells, but also antibiotics or heavy metals, which leads to the emergence of ARG. The factor in the joint selection of ARG, resistance to heavy metals, and PAHs biotransformation genes is also their joint localization on mobile genetic elements. Resistance genes to metals and ARG are often a part of the same plasmids. For genes of hydrocarbon biodegradation pathways, transmission is shown using type I integrons, which also often transmit multidrug resistance. Resistance to pesticides occurs as the result of mutation. The mutated enzyme may be able to decompose not only pesticides, but also antibiotics. Microplastics are hydrophobic and capable of adsorbing a variety of pollutants. Large particles of microplastics promote the spread of antibiotic resistance genes. Multiple antibiotic resistance is an important public health issue. Understanding the mechanisms of emergence and spread of ARG may help to solve this problem.

Keywords: antibiotic resistance genes, antibiotic resistant bacteria, pollutants, polyaromatic hydrocarbons, natural microbiomes, resistance spread.

Гены устойчивости к антибиотикам (АРГ) рассматриваются как новый вид загрязнения и привлекают всё большее внимание в связи с их широким присутствием в окружающей среде. АРГ стали более распространёнными не только в результате сильного селективного давления антибиотиков (АБ), но и других факторов антропогенного воздействия [1].

Почвенный микробиом является резервуаром для множества АРГ, включая ещё не изученные. В нём также осуществляются различные генетические механизмы передачи генов устойчивости. Антропогенная деятельность также может способствовать переносу антибиотикорезистентных бактерий (АРБ) и АРГ в почвы, одновременно оказывая избирательное давление, которое может увеличивать количество почвенных АРГ. Кроме того, физические качества почвы могут оказывать существенное влияние на активность и стабильность как АБ, так и АРГ в почвенных частицах [2].

Ранее было установлено, что на распространение АРГ влияют тяжёлые металлы (ТМ), дезинфицирующие средства и АБ. Позднее появились работы, посвящённые влиянию различных поллютантов, таких как наночастицы, лекарственные препараты, средства личной гигиены, микропластик, сточные воды и полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), на микробные сообщества и распространение АРГ в различных средах. Но имеющаяся информация относительно взаимодействия «новых» [3, 4] и давно исследуемых органических поллютантов (за исключением АБ, бактериоцидов), а также ТМ на динамику АРГ весьма ограничена, и мировая библиография насчитывает всего несколько десятков работ [5].

Источниками генов антибиотикоустойчивости могут являться: органические вещества

(сточные воды [6–8], навоз, применяемый для удобрения почв [9, 10]), биологические агенты (бактериофаги [11]). Воздействие АРБ и АРГ, поступающих из окружающей среды, может усилить распространение детерминант устойчивости в микробиоме человека [12]. Многие гены устойчивости к АБ, обнаруженные в патогенных бактериях, могли быть привнесены из природных микробиоценозов и претерпели дальнейшую эволюцию, что указывает на безотлагательную необходимость определения резервуаров устойчивости к АБ в окружающей среде [13].

Приобретённая устойчивость к АБ возникает, когда восприимчивые бактерии приобретают гены, кодирующие механизм резистентности, посредством мутации или, чаще, передачи генетического материала от бактерий того же или другого вида. Передача может происходить несколькими способами: конъюгация, трансдукция и трансформация [14]. Это всё различные способы горизонтального переноса генов (ГПГ), который является основной движущей силой распространения устойчивости к АБ у бактерий [15].

При конъюгации гены устойчивости к противомикробным препаратам переносятся из одной бактериальной клетки в другую в составе таких мобильных генетических элементов (МГЭ) как конъюгативные плазмиды, конъюгативные транспозоны и геномные острова. При трансдукции генетический материал от одной бактерии к другой переносят бактериофаги. Как правило, это умеренные бактериофаги, способные встраиваться в бактериальную хромосому. При вырезании они способны мобилизовать фрагменты хромосомы. Остальные, весьма разнообразные мобильные генетические элементы, перемещаются между клетками лишь в составе перечисленных выше [16]. При трансформации

(поглощении бактерией внеклеточной ДНК) участие МГЭ и вовсе не обязательно, но АРГ, интегрированные в мобилом, встраиваются в бактериальные репликоны гораздо эффективнее. В реальности различные механизмы могут сочетаться – так, например, известны гибриды бактериофагов и плазмид [17].

Кроме того, химические соединения (например, АБ и ТМ) в различных концентрациях могут обеспечивать постоянный селективный отбор, способствуя эволюции существующих и появлению новых детерминант устойчивости [18]. Но влияние поллютантов на природные резистомы не ограничивается лишь АБ и ТМ. Известно, что в диссеминации АРГ и АРБ участвуют также ароматические углеводороды [19], пестициды [20] и другие органические загрязнители.

Целью данного обзора является привлечение внимания специалистов-экологов к проблеме распространения АРГ под воздействием широкого спектра различных органических поллютантов, а также к слабой изученности механизмов и степени влияния различных классов соединений на этот процесс.

Влияние антибиотиков на распространение АРГ в окружающей среде

АБ представляют собой класс вторичных метаболитов, продуцируемых микроорганизмами, а также химически синтезированных аналогичных соединений, которые способны ингибировать рост и выживание других микроорганизмов. АБ используют в клинической практике, а также для профилактики, лечения и стимуляции роста животных. АБ присутствуют в окружающей среде в остаточных количествах и попадают туда главным образом с мочой, человеческим калом и навозом животных, а также с производственными сточными водами. Остатки АБ загрязняют почву, поверхностные и подземные воды, и в итоге способствуют размножению АРБ и распространению АРГ. На количество остатков АБ и пул бактерий, устойчивых к АБ, и их генов устойчивости в природных экосистемах влияет множество факторов: сброс промышленных и муниципальных сточных вод, стоки с удобренных сельскохозяйственных земель, эффективность микробиологической деградации АБ в очистных сооружениях и т. д. [21]. В частности, во всём мире относительно высок уровень загрязнения АБ воды и донных отложений. В поверхностных водах

он колеблется от нг/л до мкг/л, в то время как в донных отложениях и водных организмах варьирует от нг/г до мкг/г (в пересчёте на сухое вещество) [22].

Несколько АРГ часто обнаруживаются на одной и той же плазмиде или других мобильных генетических элементах, что приводит к корреляциям, обнаруженным с резистентностью к различным АБ [23]. В других исследованиях отмечалась слабая корреляция между АБ и АРГ или её отсутствие [24, 25]. Это можно объяснить тем, что микробные популяции могут сохранять гены устойчивости в течение длительного времени после их первоначального появления, что может привести к отсутствию прямой корреляции между АБ и АРГ [26]. Кроме того, появление в среде АБ способствует появлению устойчивости не только к этому классу АБ, но и к другим. Так, например, значительные положительные корреляции между количеством АРГ и соответствующими АБ или другим классом АБ были обнаружены в агроэкосистемах в Китае [27], Корее [28], Буркина Фасо и Камеруне [29]. Также, кроме возникновения непосредственной устойчивости к АБ, сами АБ могут стимулировать горизонтальный и вертикальный перенос генов [30].

Таким образом, АБ не только способствуют возникновению устойчивости к ним, но и её распространению посредством горизонтального и вертикального переноса генов. Но, поскольку АРГ сохраняются в среде дольше, чем сами АБ, прямую связь между ними не всегда возможно обнаружить. Необходимо также учитывать, что природные микробиомы являются резервуаром, в котором возникло и поддерживается разнообразие генетического материала, связанного с устойчивостью к АБ. Микроорганизмы продуцируют АБ в природе более 2 млрд лет. В течение всего этого времени у бактерий развивались механизмы резистентности к их токсическому действию [31].

Влияние тяжёлых металлов на распространение АРГ в окружающей среде

Основными источниками поступления ТМ в почву, воду и донные отложения являются различные виды антропогенного воздействия, например, транспорт, металлургическая, лакокрасочная, химическая промышленность, получение тепла и энергии при сжигании ископаемого топлива, муници-

пальные и промышленные твёрдые и жидкие отходы [32, 33], сельскохозяйственная деятельность [34] и др.

Микробиота может достичь устойчивости к АБ посредством следующих механизмов: снижения проницаемости мембраны для АБ, инактивации АБ, активного выведения АБ за пределы клетки (эффлюкс), мутации гена, кодирующего мишень АБ, продукции бактерией альтернативных мишеней и образования бактериальных биоплёнок [35]. Стоит отметить, что резистентность к металлам достигается путём применения аналогичных стратегий. Например, устойчивость к As, Mn, Co, Cu, Ag, Zn, ципрофлоксацину, β-лактамам, хлорамфениколу и тетрациклину достигается снижением проницаемости мембран [36]. Устойчивость к As, Hg, хлорамфениколу и β-лактамам достигается инактивацией АБ/металлов [37, 38]. Многие микроорганизмы устойчивы к Cu, Co, As, Zn, Cd, тетрациклину, хлорамфениколу и β-лактамам благодаря активному выведению металла или АБ за пределы клетки [39]. Необходимо также отметить, что Cu, например, облегчает конъюгативный перенос плазмиды RP4 за счёт эффекта повреждения клеток, тем самым ускоряя передачу и пролиферацию ARG [40].

В исследованиях, проведённых в работе [41], показана опосредованная плазмидами устойчивость бактерий к тяжёлым металлам (Hg^{2+} и Cu^{2+}) и АБ. Кроме того, совместное распространение плазмид-опосредованной устойчивости к ТМ и АБ наблюдалось у *E. coli*, присутствующей в микробиоме домашних животных [42].

Однако, могут иметь место и обратные эффекты. Su с коллегами исследовали влияние четырёх типичных наночастиц металлов и оксидов металлов (Cu, Zn, CuO и ZnO) на ARG. Наличие наночастиц уменьшало разнообразие ARG, при этом наночастицы оксида металла вызывали более выраженный эффект уменьшения количества и разнообразия ARG по сравнению с растворимыми формами. В итоге комбинированные эффекты корпускулярных и растворимых форм металлов определяют степень распространения ARG [3].

В процессе реализации токсических эффектов металлы или АБ сталкиваются с одними и теми же мишенями, что в результате приводит к апоптозу или развитию резистентности к АБ, вызванной металлами (или, наоборот, резистентности к металлам, вызванной АБ), а также способствуют ко-селекции соответствующих детерминант резистентности.

Влияние ПАУ на распространение ARG в окружающей среде

Полициклические ароматические углеводороды повсеместно распространены в различных средах, и их концентрации возрастают в случае антропогенного загрязнения и техногенных аварий. В результате загрязнения ПАУ значительно изменяется структура почвенных бактериальных сообществ. Толерантные к ПАУ бактериальные изоляты из среды, сильно загрязнённой углеводородами, часто проявляют высокую устойчивость к металлам и АБ [19]. Концентрации ПАУ в почвах определяются балансом между их накоплением в результате атмосферного осаждения и потерей из-за летучести, биodeградации, фотолиза [43].

Бактерии могут использовать различные стратегии противодействия токсичности ПАУ. Они способны разлагать ПАУ до менее токсичных метаболитов, используя группу внутриклеточных ферментов, а также использовать ПАУ в качестве питательных веществ для поддержания роста, когда они являются единственным источником углерода [44, 45]. Кроме того, даже те бактериальные популяции, которые не способны разлагать ПАУ, могут использовать различные способы для того, чтобы избежать токсического воздействия этих углеводородов [46]. Так, эффлюксные насосы, способные выводить токсичные вещества за пределы клеток, являются широко распространённым механизмом устойчивости к различным поллютантам, таким как АБ, ТМ, ПАУ [47]. Показано, что ARG, кодирующие перенос АБ ароматического ряда через эффлюксные насосы, распространены в почвах, подверженных загрязнению ПАУ [19].

Установлена сильная положительная корреляция между быстро десорбирующейся фракцией пирена и содержанием ARG [48]. Таким образом, биодоступный пирен, а не общий пирен, играет основную роль в поддержании и изменении содержания ARG в почве. Этому может способствовать возникновение окислительного стресса, SOS-ответа, мутагенеза и ГПГ при деградации ПАУ [49–51].

В исследовании [1] показано, что в прибрежных микробных сообществах, подвергшихся воздействию ПАУ, присутствовали интегроны I класса, несущие гены *fadD* и *fadK*, связанные с минерализацией ПАУ [52]. Обычно количество интегронов в любой водной экосистеме коррелирует со степенью загрязнения

АБ и ТМ [53]. Интегроны, особенно интегроны класса I, очень часто положительно коррелировали с количеством АРБ и АРГ в реках [54]. Например, большое количество (40%) мультирезистентных бактерий, содержащих интегроны класса I, были обнаружены в реке Торса, Индия. Более того, большее количество мультирезистентных бактерий положительно коррелировало с содержанием интегровов в микробиоме, что доказывает значительную связь между мультирезистентностью и интегронами [55]. Вероятно, ПАУ способствовали распространению генов *fadD* и *fadK* среди различных микроорганизмов. Одновременно, вместе с ними, ПАУ способствовали совместному отбору АРГ, поскольку эти два типа генов могут существовать в одном и том же интегрене I класса. Это означает, что механизм совместного отбора может быть вовлечён в конъюгативный перенос АРГ, индуцированный ПАУ.

Влияние пестицидов на распространение АРГ в окружающей среде

Присутствие в окружающей среде пестицидов способствует нарушению сложившихся микробиомов и появлению и распространению бактерий, резистентных к пестицидам.

Микроорганизмы-деконструкторы пестицидов могут обладать устойчивостью к антимикробным веществам, включая АБ, из-за схожести действия этих веществ и пестицидов [20].

Появление у бактериального штамма устойчивости к пестициду посредством генетических мутаций, которые позволяют штамму одновременно обладать резистентностью к ряду АБ, называется перекрёстной устойчивостью. Эволюция путей деградации пестицидов, наряду с генетическими мутациями, привела к повышению уровня множественной лекарственной устойчивости среди почвенных бактерий из-за постоянного поступления пестицидов [56, 57]. Пестициды могут проникать в организм человека и животных с пищей, что приводит к появлению в микрофлоре организма бактерий с множественной лекарственной устойчивостью в результате перекрёстной резистентности. Таким образом, пестициды влияют на микроорганизмы, способствуя развитию устойчивости к АБ.

Гены устойчивости к пестицидам всегда передаются в виде генных кластеров, и эти кластеры могут нести гены устойчивости к АБ. Кроме того, для некоторых индуцированных мутаций изменённый активный сайт целевого

фермента может расщеплять как пестициды, так и АБ, что приводит к перекрёстной резистентности. В литературе встречаются сообщения о бактериях, демонстрирующих устойчивость к пестицидам, а также к широкому спектру АБ [58]. В одном из исследований штаммы бактерий дикого типа (*Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*) постоянно подвергались воздействию сублетальных концентраций гербицидов (Камба, Раундап и 2,4-D). Впоследствии у них развилась устойчивость к таким АБ, как ампициллин, тетрациклин, цiproфлоксацин, канамицин и хлорамфеникол [59]. Таким образом, загрязнение окружающей среды пестицидами приводит к росту количества индуцированных мутаций, обеспечивающих резистентность к пестицидам (и АБ), а также распространению штаммов, обладающих перекрёстной устойчивостью. Кроме того, влияние пестицидов может усиливать распространение АРГ за счёт ко-селекции генных кластеров, несущих детерминанты резистентности как к пестицидам, так и к АБ.

Влияние загрязнения микропластиком на распространение АРГ в окружающей среде

Микропластиком считаются частицы пластика размером менее 5 мм [60], которые могут накапливаться в воде [61], почве [62], а также в живых организмах [63], и в итоге попадать в организм человека с пищей. Микропластик способен адсорбировать ТМ и гидрофобные органические загрязнители. Адсорбция органических загрязнителей микропластиком включает поверхностную адсорбцию и заполнение пор полимерных структур [64]. Так как микропластик, как и многие органические загрязнители, обладает гидрофобными свойствами, он способен легко адсорбироваться частицами почвы и органическими веществами [65].

Свойства, источник и возраст микропластика влияют на его адсорбционную способность [66]. В работе [64] исследована адсорбция Zn^{2+} на поверхности микропластика и обнаружено, что в результате этого облегчается биодоступность ионов цинка. Проведено исследование [67], показывающее, что частицы микропластика крупных размеров способны адсорбировать большое количество АРГ и ТМ, а также мобильных генетических элементов, которые могут способствовать распространению устойчивости к АБ. Роль собственно микроскопических

частиц пластика в распространении ARG практически не исследована. Но результаты опубликованных работ позволяют утверждать, что частицы микропластика, сорбируя органические загрязнители, ТМ и генетический материал, содержащий детерминанты резистентности, способны создавать высокие локальные концентрации поллютантов. Как следствие, микропластик в местах накопления создаёт условия, крайне благоприятные для распространения ARG.

В целом корреляционный анализ показал более сильную положительную связь между численностью ARG и содержанием биодоступных органических загрязнителей, по сравнению с общим количеством органических загрязнителей. Это свидетельствует о прямом влиянии биодоступности смешанных загрязнителей на распространение ARG в почве [68].

Заключение

Появление бактерий, обладающих множественной устойчивостью к АБ, привело к возникновению важной проблемы в здравоохранении. Анализ исследований по данной теме показывает значительный пробел в знаниях о влиянии большинства поллютантов на распространение ARG в природных микробиомах. Исключения составляют АБ, бактериоциды и ТМ, роль которых в отборе и распространении ARG в значительной степени исследована. Крайне мало число работ, направленных на исследование того, какие вещества и в какой степени участвуют в механизме совместного отбора ARG, горизонтального переноса генетического материала и адаптивной эволюции бактерий.

Обзор литературных источников, посвящённых влиянию загрязнения на распространение ARG, показывает, что проблема роста резистентности бактерий не может быть решена лишь борьбой с поступлением АБ в окружающую среду и с их неконтролируемым использованием в здравоохранении и сельском хозяйстве. Для прояснения этого вопроса необходимо проведение исследований, направленных на подробное изучение механизмов влияния различных классов химических соединений на вышеперечисленные генетические процессы в бактериальных сообществах. Необходимо также изучение генетических процессов в микробоценозах, загрязнённых смесями поллютантов, для выяснения синергетических и интерференционных взаимодействий загрязняющих веществ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № 0852-2020-0029, Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-34-90107).

Funding: Research was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of State assignment No. 0852-2020-0029 in the field of scientific activity, the Russian Foundation for Basic Research (Grant number No. 19-34-90107).

References

1. Wang J., Zhao Z., Chen J., Lu H., Liu G., Zhou J., Guan X. PAHs accelerate the propagation of antibiotic resistance genes in coastal water microbial community // *Environmental Pollution*. 2017. V. 231. P. 1145–1152. doi: 10.1016/j.envpol.2017.07.067
2. Cytryn E. The soil resistome: the anthropogenic, the native, and the unknown // *Soil Biology and Biochemistry*. 2013. V. 63. P. 18–23. doi: 10.1016/j.soilbio.2013.03.017
3. Su Y., Wu D., Xia H., Zhang C., Shi J., Wilkinson K.J., Xie B. Metallic nanoparticles induced antibiotic resistance genes attenuation of leachate culturable microbiota: The combined roles of growth inhibition, ion dissolution and oxidative stress // *Environment International*. 2019. V. 128. P. 407–416. doi: 10.1016/j.envint.2019.05.007
4. Wang S., Xue N., Li W., Zhang D., Pan X., Luo Y. Selectively enrichment of antibiotics and ARGs by microplastics in river, estuary and marine waters // *Science of the Total Environment*. 2020. V. 708. P. 134594. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134594
5. Zhu Y.G., Zhao Y., Zhu D., Gillings M., Penuelas J., Ok Y.S., Capon A., Banwart S. Soil biota, antimicrobial resistance and planetary health // *Environment International*. 2019. V. 131. P. 105059. doi: 10.1016/j.envint.2019.105059
6. Huang L., Xu Y., Xu J., Ling J., Zheng L., Zhou X., Xie G. Dissemination of antibiotic resistance genes (ARGs) by rainfall on a cyclic economic breeding livestock farm // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2019. V. 138. P. 114–121. doi: 10.1016/j.ibiod.2019.01.009
7. Fan X.Y., Gao J.F., Pan K.L., Li D.C., Dai H.H., Li X. Functional genera, potential pathogens and predicted antibiotic resistance genes in 16 full-scale wastewater treatment plants treating different types of wastewater // *Biore-source Technology*. 2018. V. 268. P. 97–106. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.118
8. Sazykin I.S., Seliverstova E.Y., Khmelevtsova L.E., Azhogina T.N., Kudeevskaya E.M., Khammami M.I., Gnennaya N.V., Al-Rammahi A.A.K., Rakin A.V., Sazykina M.A. Occurrence of antibiotic resistance genes in sewages of Rostov-on-Don and lower Don River //

Theoretical and Applied Ecology. 2019. V. 4. P. 76–82. doi: 10.25750/1995-4301-2019-4-076-082

9. Chen Z., Zhang W., Yang L., Stedtfeld R., Peng A., Gu C., Boyd S., Li H. Antibiotic resistance genes and bacterial communities in cornfield and pasture soils receiving swine and dairy manures // *Environmental Pollution*. 2019. V. 248. P. 947–957. doi: 10.1016/j.envpol.2019.02.093

10. Wen X., Mi J., Wang Y., Ma B., Zou Y., Liao X., Liang J., Wu Y. Occurrence and contamination profiles of antibiotic resistance genes from swine manure to receiving environments in Guangdong Province southern China // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2019. V. 173. P. 96–102. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.02.023

11. Calero-Cáceres W., Balcázar J.L. Antibiotic resistance genes in bacteriophages from diverse marine habitats // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 654. P. 452–455. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.166

12. Tiedje J.M., Wang F., Manaia C.M., Virta M., Sheng H., Liping M.A., Zhang T., Topp E. Antibiotic resistance genes in the human-impacted environment: a one health perspective // *Pedosphere*. 2019. V. 29. No. 3. P. 273–282. doi: 10.1016/S1002-0160(18)60062-1

13. Mafiz A., Perera L., He Y., Zhang W., Xiao S., Hao W., Sun S., Zhou K., Zhang Y. Case study on the soil antibiotic resistome in an urban community garden // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2018. V. 52. No. 2. P. 241–250. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2018.05.016

14. MacGowan A., Macnaughton E. Antibiotic resistance // *Medicine*. 2017. V. 45. No. 10. P. 622–628. doi: 10.1016/j.mpmed.2017.07.006

15. Chen C., Pankow C., Oh M., Heath L., Zhang L., Du P., Xia K., Pruden A. Effect of antibiotic use and composting on antibiotic resistance gene abundance and resistome risks of soils receiving manure-derived amendments // *Environment International*. 2019. V. 128. P. 233–243. doi: 10.1016/j.envint.2019.04.043

16. Osborn A.M., Böltner D. When phage, plasmids, and transposons collide: genomic islands, and conjugative- and mobilizable-transposons as a mosaic continuum // *Plasmid*. 2002. V. 48. No. 3. P. 202–212. doi: 10.1016/S0147-619X(02)00117-8

17. Canchaya C., Proux C., Fournous G., Bruttin A., Brussow H. Prophage genomics // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2003. V. 67. No. 2. P. 238–276. doi: 10.1128/MMBR.67.2.238-276.2003

18. An X., Su J., Li B., Ouyang W., Zhao Y., Chen Q., Cui L., Chen H., Gillings M., Zhang T., Zhu Y. Tracking antibiotic resistome during wastewater treatment using high throughput quantitative PCR // *Environment International*. 2018. V. 117. P. 146–153. doi: 10.1016/j.envint.2018.05.011

19. Chen B., He R., Yuan K., Chen E., Lin L., Chen X., Yang Y. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enriching antibiotic resistance genes (ARGs) in the soils // *Environmental Pollution*. 2017. V. 220. P. 1005–1013. doi: 10.1016/j.envpol.2016.11.047

20. Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Megharaj M. Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? // *Science of the Total Environment*. 2019. V. 654. P. 177–189. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.041

21. Manyi-Loh C., Mamphweli S., Meyer E., Okoh A. Antibiotic use in agriculture and its consequential resistance in environmental sources: potential public health implications // *Molecules*. 2018. V. 23. No. 4. P. 795. doi: 10.3390/molecules23040795

22. Liu X., Lu S., Guo W., Xi B., Wang W. Antibiotics in the aquatic environments: a review of lakes, China // *Science of the Total Environment*. 2018. V. 627. P. 1195–1208. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.01.271

23. Berg J., Thorsen M.K., Holm P.E., Jensen J., Nybroe O., Brandt K.K. Cu exposure under field conditions coselects for antibiotic resistance as determined by a novel cultivation-independent bacterial community tolerance assay // *Environmental Science & Technology*. 2010. V. 44. No. 22. P. 8724–8728. doi: 10.1021/es101798r

24. Wang J., Ben W., Yang M., Zhang Y., Qiang Z. Dissemination of veterinary antibiotics and corresponding resistance genes from a concentrated swine feedlot along the waste treatment paths // *Environment International*. 2016. V. 92. P. 317–323. doi: 10.1016/j.envint.2016.04.020

25. Wang N., Guo X., Yan Z., Wang W., Chen B., Ge F., Ye B. A comprehensive analysis on spread and distribution characteristic of antibiotic resistance genes in livestock farms of Southeastern China // *PLoS ONE*. 2016. V. 11. No. 7. P. e0156889. doi: 10.1371/journal.pone.0156889

26. Hall A.R., Colegrave N. Decay of unused characters by selection and drift // *Journal of Evolutionary Biology*. 2008. V. 21. No. 2. P. 610–617. doi: 10.1111/j.1420-9101.2007.01473.x

27. Cheng W., Li J., Wu Y., Xu L., Su C., Qian Y., Zhu Y.-G., Chen H. Behavior of antibiotics and antibiotic resistance genes in eco-agricultural system: a case study // *Journal of Hazardous Materials*. 2016. V. 304. P. 18–25. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.10.037

28. Awad Y.M., Kim K.R., Kim S.-C., Kim K., Lee S.R., Lee S.S., Ok Y.S. Monitoring antibiotic residues and corresponding antibiotic resistance genes in an agroecosystem // *Journal of Chemistry*. 2015. Article ID 974843. P. 1–7. doi: 10.1155/2015/974843

29. Bougnom B.P., Thiele-Bruhn S., Ricci V., Zongo C., Piddock L.J.V. Raw wastewater irrigation for urban agriculture in three African cities increases the abundance of transferable antibiotic resistance genes in soil, including those encoding extended spectrum β -lactamases (ESBLs) // *Science of the Total Environment*. 2019. P. 134201. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134201

30. Li B., Qiu Y., Song Y., Lin H., Yin H. Dissecting horizontal and vertical gene transfer of antibiotic resistance plasmid in bacterial community using microfluidics // *Environment International*. 2019. V. 131. P. 105007. doi: 10.1016/j.envint.2019.105007

31. Holmes A.H., Moore L.S., Sundsfjord A., Steinbakk M., Regmi S., Karkey A., Guerin P.J., Piddock L.J. Understanding the mechanisms and drivers of antimicrobial resistance // *The Lancet*. 2016. V. 387. No. 10014. P. 176–187. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00473-0
32. Zwolak A., Sarzyńska M., Szpyrka E., Stawarczyk K. Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: a review // *Water Air Soil Pollut.* 2019. V. 230. P. 164. doi: 10.1007/s11270-019-4221-y
33. Naik M.M., Pandey A., Dubey S.K. Biological characterization of lead-enhanced exopolysaccharide produced by a lead resistant *Enterobacter cloacae* strain P2B // *Biodegradation*. 2012. V. 23. No. 5. P. 775–783. doi: 10.1007/s10532-012-9552-y
34. Seiler C., Berendonk T.U. Heavy metal driven co-selection of antibiotic resistance in soil and water bodies impacted by agriculture and aquaculture // *Frontiers in Microbiology*. 2012. V. 3. P. 399. doi: 10.3389/fmicb.2012.00399
35. Sekyere J.O., Asante J. Emerging mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria and fungi: advances in the era of genomics // *Future Microbiology*. 2018. V. 13. No. 2. P. 241–262. doi: 10.2217/fmb-2017-0172
36. Silver S., Phung L.T. Bacterial heavy metal resistance: new surprises // *Annual Review of Microbiology*. 1996. V. 50. No. 1. P. 753–789. doi: 10.1146/annurev.micro.50.1.753
37. Mukhopadhyay R., Rosen B.P. Arsenate reductases in prokaryotes and eukaryotes // *Environmental Health Perspectives*. 2002. V. 110. No. Suppl 5. P. 745–748. doi: 10.1289/ehp.02110s5745
38. Wright G.D. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2005. V. 57. No. 10. P. 1451–1470. doi: 10.1016/j.addr.2005.04.002
39. Nies D.H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes // *FEMS Microbiology Reviews*. 2003. V. 27. No. 2–3. P. 313–339. doi: 10.1016/S0168-6445(03)00048-2
40. Wang Q., Liu L., Hou Z., Wang L., Ma D., Yang G., Guo S., Luo J., Qi L., Luo Y. Heavy metal copper accelerates the conjugative transfer of antibiotic resistance genes in freshwater microcosms // *Science of the Total Environment*. 2020. P. 137055. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137055
41. Jayaprakashvel M., Vijay S., Karthigeyan C.P., Hussain A.J. Isolation and characterization of mercury resistant marine bacteria from the coastal area of Chennai, India // *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*. 2015. V. 4. P. 64–76.
42. Fang L., Li X., Li L., Li S., Liao X., Sun J., Liu Y. Co-spread of metal and antibiotic resistance within ST3-IncHI2 plasmids from *E. coli* isolates of food-producing animals // *Scientific reports*. 2016. V. 6. P. 25312. doi: 10.1038/srep25312
43. Wang Z., Liu S., Zhang T. Characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil horizon from high-altitude mountains in Northeastern China // *Chemosphere*. 2019. V. 225. P. 93–103. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.03.001
44. Kanehisa M., Araki M., Goto S., Hattori M., Hirakawa M., Itoh M., Yamanishi Y. KEGG for linking genomes to life and the environment // *Nucleic acids research*. 2007. V. 36. No. Suppl 1. P. D480–D484. doi: 10.1093/nar/gkm882
45. Kweon O., Kim S.J., Holland R.D., Chen H., Kim D.W., Gao Y., Cerniglia C.E. Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolic network in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1 // *Journal of Bacteriology*. 2011. V. 193. No. 17. P. 4326–4337. doi: 10.1128/JB.00215-11
46. Ren G., Ren W., Teng Y., Li Z. Evident bacterial community changes but only slight degradation when polluted with pyrene in a red soil // *Frontiers in Microbiology*. 2015. V. 6. P. 22. doi: 10.3389/fmicb.2015.00022
47. Adebusuyi A.A., Foght J.M. An alternative physiological role for the EmhABC efflux pump in *Pseudomonas fluorescens* cLP6a // *BMC Microbiology*. 2011. V. 11. No. 1. P. 252. doi: 10.1186/1471-2180-11-252
48. Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Shen F., Tian D., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Impact of bioaccessible pyrene on the abundance of antibiotic resistance genes during *Sphingobium* sp. and sophorolipid-enhanced bioremediation in soil // *Journal of Hazardous Materials*. 2015. V. 300. P. 121–128. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.06.065
49. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Khammami M.I., Karchava Sh.K., Zhuravleva M.V., Kudееvskaya E.M. Expression of SOD and production of reactive oxygen species in *Acinetobacter calcoaceticus* caused by hydrocarbons oxidation // *Annals of Microbiology*. 2016. V. 66. doi: 10.1007/s13213-015-1188-9
50. Sazykin I.S., Sazykina M.A., Khmelevtsova L.E., Seliverstova E.Yu., Karchava Sh.K., Zhuravleva M.V. Antioxidant enzymes and reactive oxygen species level of the *Achromobacter xylooxidans* bacteria during hydrocarbons biotransformation // *Archives of Microbiology*. 2018. V. 200. No. 7. P. 1057–1065. doi: 10.1007/s00203-018-1516-0
51. Sazykin I., Makarenko M., Khmelevtsova L., Seliverstova E., Sazykina M. Cyclohexane, naphthalene and diesel fuel increase oxidative stress, CYP153, sodA and recA genes expression in *Rhodococcus erythropolis* // *Microbiology Open*. 2019. V. 22. P. e855. doi: 10.1002/mbo3.855
52. Dong Y., Du H., Gao C., Ma T., Feng L. Characterization of two long-chain fatty acid CoA ligases in the Gram-positive bacterium *Geobacillus thermodenitrificans* NG80-2 // *Microbiological Research*. 2012. V. 167. No. 10. P. 602–660. doi: 10.1016/j.micres.2012.05.001
53. Reise S.P., Waller N.G. Item response theory and clinical measurement // *Annual Review of Clinical Psychology*. 2009. V. 5. P. 27–48. doi: 10.1146/annurev-genet-102209-163504
54. Chen B., Liang X., Nie X., Huang X., Zou S., Li X. Item response theory and clinical measurement // An-

- nual Review of Clinical Psychology. 2009. V. 5. P. 27–48. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.06.010
55. Mukherjee S., Chakraborty R. Incidence of class 1 integrons in multiple antibiotic-resistant Gram-negative copiotrophic bacteria from the River Torsa in India // Research in Microbiology. 2006. V. 157. No. 3. P. 220–226. doi: 10.1016/j.resmic.2005.08.003
56. Bergman J. Does the acquisition of antibiotic and pesticide resistance provide evidence for evolution? // Journal of Creation. 2003. V. 1. No. 17. P. 26–32.
57. Anjum R., Krakat N. Detection of multiple resistances, biofilm formation and conjugative transfer of *Bacillus cereus* from contaminated soils // Current Microbiology. 2016. V. 72. No. 3. P. 321–328. doi: 10.1007/s00284-015-0952-1
58. Kirubakaran R., Murugan A., Chinnathambi P., Parraj A. Influence of residual pesticide on plant growth promoting bacteria isolated from agriculture field // Journal of Basic Applied Plant Sciences. 2017. V. 1. No. 2. P. 11.
59. Kurenbach B., Marjoshi D., Amábile-Cuevas C.F., Ferguson G.C., Godsoe W., Gibson P., Heinemann J.A. Sublethal exposure to commercial formulations of the herbicides dicamba, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, and glyphosate cause changes in antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium // MBio. 2015. V. 6. No. 2. P. e00009-15.
60. Dudas S., Covernton G., Miller M.R., Pearce C., Gurney-Smith H., Dower J. Does habitat influence bivalve microplastic concentration? // Salish Sea Ecosystem Conference. 2018. [Internet resource] <https://cedar.wvu.edu/ssec/2018ssec/allsessions/404/> (Accessed: 11.05.2020).
61. Kwon O.Y., Kang J.H., Hong S.H., Shim W.J. Spatial distribution of microplastic in the surface waters along the coast of Korea // Marine Pollution Bulletin. 2020. P. 110729. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.110729
62. Chai B., Li X., Liu H., Lu G., Dang Z., Yin H. Bacterial communities on soil microplastic at Guiyu, an E-Waste dismantling zone of China // Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020. V. 195. P. 110521. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110521
63. Dowarah K., Patchaiyappan A., Thirunavukkarasu C., Jayakumar S., Devipriya S.P. Quantification of microplastics using Nile Red in two bivalve species *Perna viridis* and *Meretrix meretrix* from three estuaries in Pondicherry, India and microplastic uptake by local communities through bivalve diet // Marine Pollution Bulletin. 2020. V. 153. P. 110982. doi: 10.1016/j.
64. Hodson M.E., Duffus-Hodson C.A., Clark A. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates // Environmental Science & Technology. 2017. V. 51. No. 8. P. 4714–4721. doi: 10.1021/acs.est.7b00635
65. Horton A.A., Walton A., Spurgeon D.J., Lahive E., Svendsen C. Microplastics in freshwater and terrestrial environments: evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities // Science of the Total Environment. 2017. V. 586. P. 127–141. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.01.190
66. do Sul J.A.I., Costa M.F. The present and future of microplastic pollution in the marine environment // Environmental Pollution. 2014. V. 185. P. 352–364. doi: 10.1016/j.envpol.2013.10.036
67. Lu X.M., Lu P.Z., Liu X.P. Fate and abundance of antibiotic resistance genes on microplastics in facility vegetable soil // Science of the Total Environment. 2020. V. 709. P. 136276. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.136276
68. Sun M., Ye M., Wu J., Feng Y., Wan J., Tian D., Shen F., Liu K., Hu F., Li H., Jiang X., Yang L., Kengara F. Positive relationship detected between soil bioaccessible organic pollutants and antibiotic resistance genes at dairy farms in Nanjing, Eastern China // Environmental Pollution. 2015. V. 206. P. 421–428. doi: 10.1016/j.envpol.2015.07.022 marpolbul.2020.110982