

Дослідження мікробіому київського метрополітену та пошук генів резистентності до антибіотиків за використання сучасних методів метагеноміки й біоінформатики

Валерія Є. КАНЦИПА ¹, Дмитро С. ГОРИСЛАВЕЦЬ ²,
Тетяна В. ЄСЬКОВА ³, Аліна О. ФРОЛОВА ⁴

- 1) *Навчально-науковий інститут високих технологій, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна*
E-mail: kantsypa_valeriia@knu.ua
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5525-4892>
- 2) *Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України; Київський академічний університет, Київ, Україна*
E-mail: nepotlet@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6780-0235>
- 3) *Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України, Київ, Україна*
E-mail: tetiana.yeskova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8360-505X>
- 4) *Інститут молекулярної біології і генетики Національної академії наук України; Київський академічний університет, Київ, Україна*
E-mail: fshodan@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5469-7366>

Отримано 12 травня 2025, у фінальній формі 12 травня 2025

<https://doi.org/10.3842/confKAU.2025.biol.02>

Анотація. Дослідження мікробіому міського середовища є однією з наріжних проблем сьогодення. Через стрімке набуття та поширення мікроорганізмами генів стійкості до антибіотиків, особливий інтерес становлять місця великого скупчення людей, такі як системи громадського транспорту, які часто є осередком великої кількості патогенних мікробів. Широкомасштабні дослідження таких мікробіомів стали можливими з розвитком технологій секвенування й метагеноміки, що дозволило вивчати весь генетичний матеріал у певному середовищі, а також встановлювати його таксономічний і функціональний профілі. Разом з тим, мікробні угруповання міста Києва досі не були вивчені за допомогою повногеномного секвенування. У даній роботі представлено результати метагеномного аналізу зразків, зібраних на п'яти підземних станціях Оболонсько-Теремківської лінії київського метрополітену: було проведено таксономічну ідентифікацію мікроорганізмів і здійснено скринінг генів антимікробної резистентності. Ми встановили, що зразки мають високу загальну гомогенність і основний мікробіом, сформований переважно таксонами, притаманними для людського організму. Також було виявлено гени резистентності, серед яких найбільш поширеним є *qacG*, що ймовірно пов'язано із використанням дезінфекційних засобів. Результати даної роботи можуть суттєво вплинути на розуміння шляхів поширення генів резистентності, а також посприяти подальшим дослідженням середовища міста Києва.

Ключові слова: мікробіом; системи громадського транспорту; київський метрополітен; метагеноміка; міське середовище; антимікробна резистентність; біоінформатика

1 Вступ

Міста нагромаджені об'єктами, створеними людьми: житловими, господарчими та громадськими будівлями, промисловими та інженерними спорудами. В них створюються унікальні, відмінні від природних умови для мікроорганізмів [25]. Як наслідок, формується мікробіом міського середовища — сукупність мікроорганізмів, що населяють поверхні рукотворних об'єктів та приміщень [5]. Водночас урбанізація все частіше асоціюється зі зростанням захворюваності на аутоімунні та неінфекційні хвороби, що частково пов'язують зі змінами в мікробіомі довкілля [21, 28]. Крім того, у міських середовищах спостерігається зростання резистентності до протимікробних препаратів [4]. У контексті стрімкого збільшення чисельності популяції міст дослідження міського мікробіому та його впливу на здоров'я мешканців набуває особливої актуальності [23].

Завдяки розвитку методів секвенування наступного покоління склад мікробіому можна вивчати без обов'язкового раніше етапу культивування [17]. Невідомі види, які залишалися поза увагою через обмеження класичних мікробіологічних методів, тепер можуть бути ідентифіковані та вивчені в межах галузі знань про колективний геном — метагеноміці. Мікробіом громадського транспорту, зокрема метрополітену, певною мірою відображає мікробіоту міського населення та довкілля, а також міський мікробіом загалом [10, 23]. У таких системах створюються сприятливі для розповсюдження мікроорганізмів умови: вони можуть виступати осередками поширення патогенів і генів резистентності до антибіотиків, що потенційно загрожує мільйонам людей [10, 13].

Київський метрополітен — наймасштабніша транспортна система в Україні, однак до цього часу мікробіом його підземних станцій залишався маловивченим. В цьому дослідженні здійснено описовий метагеномний аналіз зразків, зібраних на п'яти станціях Оболонсько-Теремківської лінії, з метою виявлення основних таксонів, потенційних патогенів та профілю генів резистентності.

2 Результати

2.1 Таксономічний аналіз

Опис найбільш розповсюджених видів. Таксономічний аналіз мікробних угруповань, зібраних на станціях метро, виявив значне домінування клітинних організмів ($n = 7462$) порівняно з вірусами ($n = 215$). Серед клітинних організмів бактерії становили переважну більшість (7 291 таксон), з незначним внеском архей (170 таксонів) та еукаріотів (1 таксон). Хоча вірусні таксони були ідентифіковані в ході аналізу, в порівнянні з мікроорганізмами їх послідовності є відносно рідкісними (~70 тис. прочитань, що складає 0,06% від усіх прочитань, що вдалось класифікувати). Серед усіх таксонів найбільш розповсюдженим є *Homo Sapiens*, знайдений в усіх зразках із загальною кількістю прочитань понад 69 мільйонів (~60% класифікованих прочитань). У видовому складі переважають бактерії, пов'язані з людиною та навколишнім середовищем. У досліджуваному мікробіомі значну частку займають бактерії асоційованих зі шкірою, як от *Cutibacterium acnes*, *Micrococcus luteus* та *Rothia kristinae*, *Cutibacterium modestum*; складові мікробіому кишківника *Escherichia coli* і *Enterobacter cloacae*; бактерії довкілля, включно з симбіонтами бобових роду *Bradyrhizobium*, патогеном рослин *Xanthomonas euvesicatoria*, атмосферною бактерією *Sphingomonas aerolata*. Прикладами опортуністичних патогенів, здатних викликати нозокоміальні інфекції (такі, що виникають під час лікування або процесу обстеження в лікарняному закладі) й ідентифікованих в наборі даних, — є *Klebsiella quasipneumoniae* та *Acinetobacter baumannii*. *K. quasipneumoniae* вважається менш вірулентною за патогенного представника роду *K. pneumoniae*, все частіше спричиняє серйозні інфекції, тоді як *A. baumannii* власти-

ва множинна резистентність до антибіотиків [16]. *Cupriavidus metallidurans*, металофільна бактерія, здатна виживати у високих концентраціях важких металів завдяки складним механізмам детоксикації [24], також увійшла до найпоширеніших видів.

Детектовані патогени. Загалом таксономічний аналіз набору даних виявив присутність 144 патогенів (первинних та умовно-патогенних), серед яких 6 є спільними для всіх зразків: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Stenotrophomonas maltophilia*. Крім того, 22 (умовно)патогенні види присутні щонайменше в 90% зразків. Серед них, окрім згаданих панівних таксонів, найпоширенішими були *Mycobacterium fortuitum* (присутній в 98,5% зразків), *Methylobacterium extorquens* (98,5%), *Prevotella melaninogenica* (98,5%) та *Haemophilus parainfluenzae* (97%). Також високу поширеність в понад 90% демонстрували представники родів *Staphylococcus* (*S. epidermidis*, *S. capitis*), *Streptococcus* (*S. oralis*, *S. sanguinis*) та деякі види *Pseudomonas* (*P. putida*, *P. fluorescens*). Варто зауважити, що використання термінів патогенний та умовно-патогенний в даній роботі базується виключно на описі цих видів в таксономічних базах даних та наукових статтях, оскільки для визначення безпосередньої функціональної активності потрібно провести додаткові молекулярно-біологічні дослідження (визначити метатранскриптом, метапротеом тощо). Дуже важливим є правильне інформування суспільства щодо результатів наукових досліджень, оскільки наявність таких видів ще не є показником погіршення епідеміологічної ситуації, й неправильна інтерпретація даної інформації може призвести до надмірно негативного уявлення ролі мікробіому в міському середовищі.

Основний мікробіом. Основний мікробіом, або група з видів, що присутні в усіх зразках, складається з 56 бактеріальних видів і представлений на рис. 1. Отримані результати узгоджуються з попередніми роботами на тему мікробіому міста та його транспортної системи [1,7,10,23]. Мікробіом станцій метро формується поєднанням асоційованих з людиною бактерій, витривалих видів, здатних виживати в умовах частих збурень та міських стресів, умовно-патогенних та патогенних мікроорганізмів.

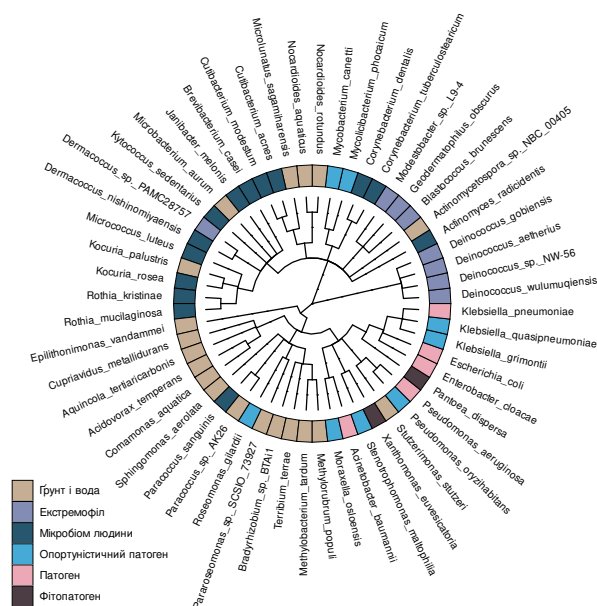


Рис. 1. Таксономічне дерево основного мікробіому метро Києва. Кольорові позначки маркують бактерії на поширені групи за способом життя / характерним середовищем існування. Види, позначені як патогенні, входять у Список Патогенів Бактеріального Пріоритету від Всесвітньої організації здоров'я (Bacterial Priority Pathogens List, WHO BPPL) [27]

Порівняння таксономічних профілів груп зразків. Для оцінки впливу таких факторів, як станція метро, тип поверхні та матеріал поверхні, на структуру мікробного угруповання було проведено аналіз дисперсії на основі відстаней (PERMANOVA) з використанням неподібності Брея–Кертиса та міри Жаккара. Аналіз не виявив статистично значущих відмінностей у складі мікробіому між різними станціями метро (Брей–Кертис: $R^2 = 0,0719$, $p = 0,191$; Жаккар: $R^2 = 0,0584$, $p = 0,487$), типами поверхонь (Брей–Кертис: $R^2 = 0,0510$, $p = 0,628$; Жаккар: $R^2 = 0,0469$, $p = 0,802$) або матеріалами поверхонь (Брей–Кертис: $R^2 = 0,0281$, $p = 0,602$; Жаккар: $R^2 = 0,0261$, $p = 0,687$). Отже, за трьома досліджуваними факторами, мікробний склад є гомогенним незалежно від географічного розташування, фізичних характеристик поверхні або її матеріалу.

Аналіз на диференційну розповсюдженість. Аналіз на диференційну розповсюдженість між станціями, поверхнями та матеріалами також не виявив значних відмінностей між групами як за допомогою глобального так і попарного тесту. Хоча кожен з проведених тестів в результаті визначав як мінімум 3 види диференційно-розповсюдженими (англ. differentially abundant, DA), жоден з видів не пройшов аналіз на чутливість до псевдорахунків (від англ. pseudocounts). ANCOMBC2, як і минулі версії цього підходу до аналізу на диференційну розповсюдженість, використовує log-трансформації для перетворення таблиць розповсюдження до тестування, де нульові значення замінюють на псевдорахунок, зазвичай 0,001. Аналіз на чутливість (SS-тест) перевіряє стабільність результату залежно від зміни псевдорахунку. У глобальному аналізі ANCOMBC2 на всіх станціях 13 таксонів були оцінені як диференційовано поширені, з найсильнішим сигналом для *Corynebacterium diphtheriae* ($p = 8,2 \times 10^5$). Однак жоден з цих таксонів не пройшов SS-тест, що свідчить про те, що навіть ці номінально значущі відмінності зникають при варіаціях псевдорахунку і, таким чином, не можуть вважатися надійними. Парна теплова карта підсумовує log-кратні зміни (log fold change, або LFC) між кожною парою станцій (рис. 2a). Серед парних порівнянь *Salinicola tamaricis* продемонструвала найбільший розмір ефекту (LFC = -6,22 на Мінській порівняно з Контрактовою площею), що відображає сильне номінальне збіднення цього таксону у зразках зібраних на Мінській, тоді як *Pseudomonas extremaustralis* була збагачена на Почайні порівняно з іншими ділянками (LFC до +2,31). *Rouxiiella badensis* та *Chryseobacterium oryzae* також демонстрували специфічні для станцій LFC (наприклад, збагачення в Мінській або на Контрактовій площі), проте жоден з них не був стійким до зміни псевдорахунків. Глобальний аналіз ANCOMBC2 показав, що із семи таксонів, які за FDR < 0,05 номінально відрізняються за розповсюдженням між матеріалами (*Empedobacter brevis*, *Peribacillus frigoritolerans*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria meningitidis*, *Citrobacter farmeri*, *Haemophilus sp. oral taxon 036* та *Haemophilus haemolyticus*), жоден не пройшов тест на чутливість до додавання псевдорахунків. Попарний тест (рис. 2б) визначив рекордну кількість DA видів для цього набору даних: 6 для порівняння пластик-метал, 17 для дерево-метал та 18 для дерево-пластик. Всі порівняння були чутливими до псевдорахунків. Аналогічними результати є для різних поверхонь: хоча 4 види для глобального та 3 для попарного тесту виявились диференційно розповсюдженими, жоден не пройшов SS-тест.

Таким чином, хоча окремі види демонструють номінальні відмінності між матеріалами, поверхнями і станціями жодна з цих знахідок не є стійкою, і загальний мікробіом метро Києва залишається однорідним незалежно від трьох досліджуваних факторів. Важливо зауважити, що всі зразки було зібрано з поверхонь, що перебувають в контакті з пасажирями, що гіпотетично робить найбільший внесок в різноманіття мікробних угруповань. Наприклад, в роботі від MetaSUB [10] ручки дверей мали мікробіом більш схожий на людський, в порівнянні з вікнами, яких рідше торкаються відвідувачі. Додатковою причиною схожості мікробіомів між поверхнями, матеріалами та станціями є відносна територіальна близькість точок збору (є в межах 11 км одна від одної), відносна рівномірність пасажиропотоку на станціях та їх розташування під землею.

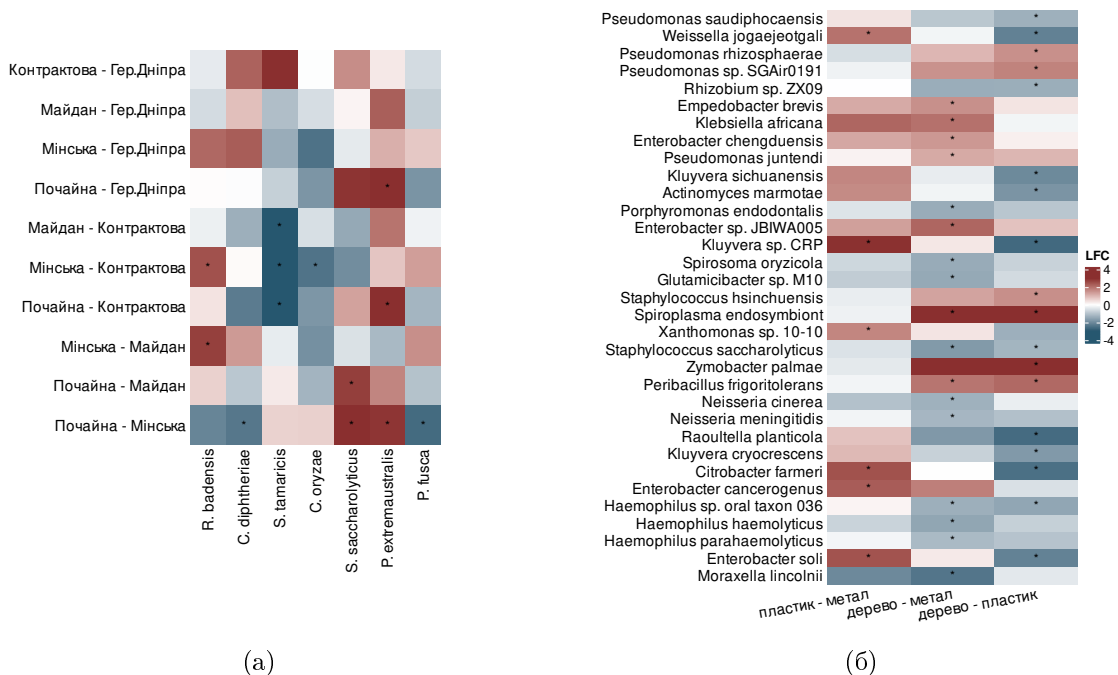


Рис. 2. Теплові мапи LFC в результаті попарних тестів між (а) станціями та (б) матеріалами. Одинарний астериск («*») позначає таксони з визначені як диференційно розповсюджені з $FDR < 0,05$, тоді як подвійний («**») вказує, що DA вид пройшов SS-тест.

2.2 Детекція генів антимікробної резистентності

Всього було знайдено 974 гена антимікробної резистентності (AMP), що становлять резистом для даного набору зразків. Найменше генів AMP було знайдено на станції Майдан Незалежності ($n = 401$), а найбільшу кількість виявили на станції Героїв Дніпра ($n = 635$). У зразках зібраних з пластикових поверхонь було ідентифіковано найбільшу кількість AMP послідовностей в порівнянні з іншими матеріалами ($n = 732$). Статистично значущої різниці між матеріалами за кількістю AMP генів не було виявлено (тест Крускала–Уолліса, p -значення = 0,1559). Також, кількість AMP генів серед поверхонь сягнула максимуму в 670 генів для зразків з квіткового автомату, тоді як на горизонтальному поручні вагону метро склала 127, що є мінімумом серед всіх поверхонь.

6 генів з усього резистому виявились спільними для всіх зразків, що надалі будемо називати основним резистомом. Панівний для цього набору даних AMP ген *qacG* асоціюють зі стійкістю до четвертинних амонієвих сполук, як от бензалконію хлорид й етидид бромід [14]. Згадані сполуки є катіонними дезінфектантами і входять до складу очищувальних засобів, що посилено використовували протягом пандемії коронавірусної хвороби 2019 р. в ході режиму посиленої дезінфекції інфраструктури [29] і, ймовірно, до неї, в період збору зразків. Канонічний *qacG* вперше було ідентифіковано в ізолятах бактерій роду *Staphylococcus* [14], а на момент написання цієї роботи варіанти *qacG* було знайдено серед секвованих геномів та плазмід важливих первинних та опортуністичних патогенів згідно з анотацією від CARD (<https://card.mcmaster.ca/>), серед яких і ті, що описані в цій роботі: *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter roggenkampii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae* та інші.

qacG входить в трійку генів за кількістю прочитань, разом з *vanY gene in cluster vanV (vanYM)* та *aadA3*. До останнього з них було вирівняно понад мільйон прочитань (для порівняння для *qacG* ця цифра складає 5 млн., тоді як для *vanYM* — 1,5 млн.), попри присутність

у всього 37% всіх зразків (*qacG* — 100%, *vanYM* — 90%). *aadA3* належить до нуклеотидил-трансфераз родини *ANT*('), що здатні інактивувати аміноглікозидні антибіотики шляхом їх модифікації [15]. Прикладом аміноглікозидів, що чинять широку протимікробну дію на грам-негативні бактерії є стрептоміцин. На другому місці за розповсюдженням серед АМР генів основного резистому є *adeF*, що кодує білок мембранного злиття трикомпонентного комплексу виведення *AdeFGH*. Надекспресія цього комплексу в штаммах *A. baumannii* надає мультирезистентність до низки антибіотиків та токсинів, зокрема до фторхінолонів, тетрациклін-тигекциклінів, хлорамфеніколу, бромід етидію, сафраніну О [9].

Для подальшого аналізу загальний список генів було відфільтровано за критеріями, що мають справджуватись хоча б для одного зразка: середнє значення MAPQ для прочитань що вирівнялись на ген > 100 , відсоток покриття гену > 70 , кількість прочитань на ген > 5000 . Фільтрування надає змогу звужити набір АМР генів до тих, що з більшою ймовірністю присутні в угрупованні й можуть надавати резистентність бактеріям, перетворюючи їх на антибіотико-стійкі. Надалі для позначення цього специфічного набору генів буде використовуватися термін «субрезистом». Рис. 3 ілюструє розповсюдженість АМР генів, що пройшли процес фільтрування. На тепловій мапі вирізняються високими значеннями розповсюдженості передусім вже згадані гени *qacG*, *vanYM*, *aadA3* та *adeF*. Також рівномірно поширеними є АМР гени *AAC(3)-Ib*, *vanTG* та *acrB*, тоді як *OKP-B-4*, *ADC-120*, *OKP-B-6*, *EBR-4*, *oleC* серед інших проявили сигнал, що пройшов фільтрування, є притаманними лише обмеженому ряду зразків.

Для порівняння профілів розповсюдження АМР генів між станціями, матеріалами та поверхнями було використано підхід, аналогічний до порівнянь таксономічних профілів, а саме аналіз PERMANOVA на матрицях неподібності Брея–Кертиса та міри Жаккара. Статистично значуща різниця в АМР профілі була виявлена лише для матеріалів за мірою Жаккара ($R^2 = 0,06837$, $p = 0,007^{**}$), тоді як всі інші порівняння не пройшли порогове значення $p = 0,05$. Попарне порівняння виявило статистично значущу різницю між металом та пластиком ($R^2 = 0,07$, $p = 0,009$). Отже, відмінними виявились лише профілі відсутності/присутності АМР генів матеріалів, тоді як профілі з урахуванням кількості прочитань на ген є відносно рівномірними.

3 Методи

У 2017 році в ході третього Global City Sampling Day консорціумом MetaSUB в 60 містах по всьому світу було зібрано понад 3 тисячі зразків з поверхонь транспортної системи. Серед них для цього дослідження було відібрано 63 зразки, що походять з п'яти станцій Оболонсько-Теремківської лінії метро Києва. Дані секвенування є у вільному доступі в European Nucleotide Archive (INSDC accession number: PRJNA732392).

Контроль якості та попереднє опрацювання сирих прочитань проведено за допомогою інструменту *fastp* [6] (вер. 0.24.0).

Метагеномні послідовності було класифіковано на таксони за допомогою ультра-швидкого класифікатора на основі k-мерів Kraken2 [19] (вер. 2.1.2) та стандартної референсної бази даних на 8 Гб, що містить геноми архей, бактерій, вірусів, плазмід і людини, і доступна онлайн [3]. Оскільки частина прочитань може бути помилково віднесена до близьких видів, було додатково проведено корекцію отриманих оцінок відносної кількості таксонів за допомогою інструменту Bracken [18] (вер. 2.8.0). Для узагальнення результатів контролю якості та таксономічного аналізу по всіх зразках було використано MultiQC [12] – інструмент, що агрегує вихідні дані багатьох програм у єдиний звіт. Відповідні скрипти з пакету KrakenTools [19] (вер. 1.2.0) було застосовано на вихідних файлах Kraken та Bracken для отримання комбінованих OTU (Operational Taxonomic Unit, або ж види, згруповані на певному рівні таксономічної ієрархії) таблиць. Таксономічну ієрархію таксонів з NCBI отрима-

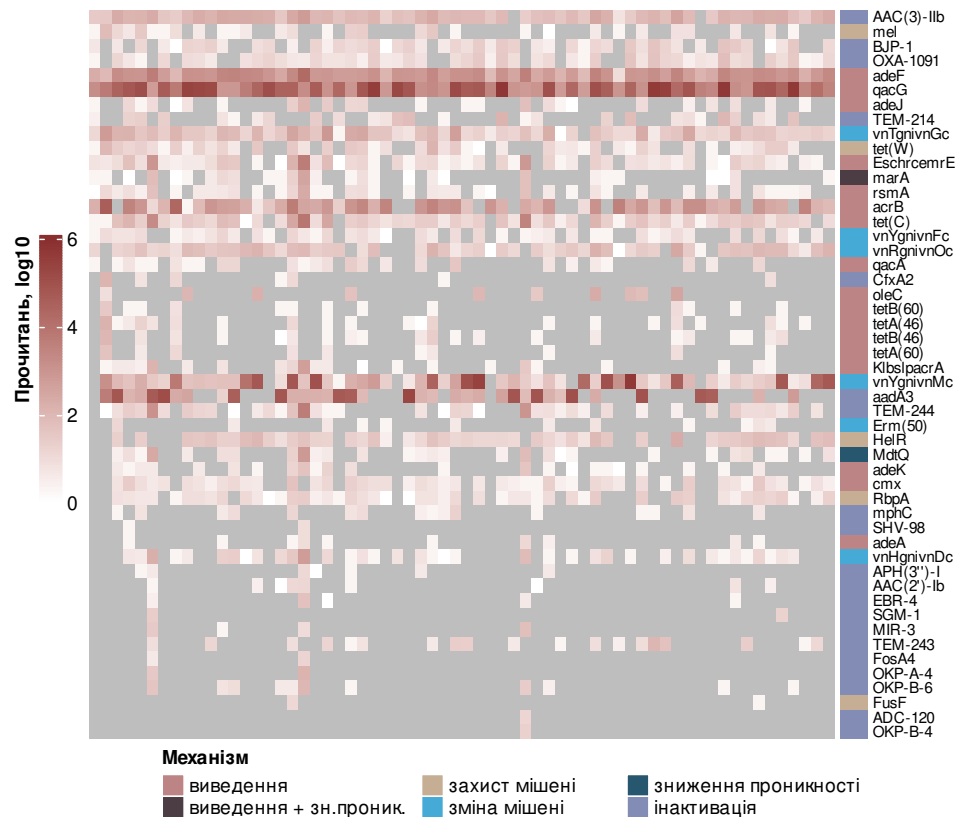


Рис. 3. Теплова мапа субрезистому п'яти станцій метро.

но за допомогою TaxonKit [26] (вер. 0.19.0). Прочитання, класифіковані як людські, були використані виключно для оцінки їх кількості без подальшого аналізу.

Для детекції AMP генів використовувався інструмент Resistance Gene Identifier (RGI, вер. 6.0.3) з референсними базами даних AMP генів CARD та Resistomes, Variants, & Prevalence даними, також відомими як Wild CARD [2], а саме алгоритм bwt для метагеномних даних секвенування. Для вирівнювання прочитань було обрано KMA [8].

Для оцінки відмінностей у складі мікробних спільнот між групами зразків було використано пермутаційний багатовимірний дисперсійний аналіз (PERMANOVA) за допомогою функції adonis із пакету vegan [20] (вер. 2.6-10). PERMANOVA це непараметричний аналіз, що використовується для порівняння декількох груп на основі матриць несхожості. Для виявлення таксонів, чия відносна чисельність відрізнялася між визначеними групами зразків, застосовано метод ANCOM-BC2 [22] (Analysis of Composition of Microbiomes with Bias Correction 2). ANCOM-BC2 — новітній підхід до диференційного аналізу композиції мікробіому, який розширює оригінальний метод ANCOM-BC для випадку більше двох груп та враховує коваріати і повторні вимірювання.

Для обробки даних було використано менеджер робочих процесів, що широко застосовується в біоінформатиці — Nextflow [11].

4 Висновки

Мікробіом київського метрополітену виявився стабільним, однорідним і переважно сформованим бактеріями, пов'язаними з людиною та навколишнім середовищем. Таксономічний аналіз виявив 56 видів, що складають основний мікробіом п'яти станцій Оболонсько-

Теремківської лінії метро, в який увійшли 6 умовно та первинно-патогенних мікроорганізмів, загальна ж кількість патогенів склала 144 види. Порівняльний аналіз таксономічних профілів груп зразків за станціями, матеріалами та окремими поверхнями на станціях виявив незначну кількість диференційно розповсюджених видів, жоден з яких не пройшов тест на чутливість до псевдорахунків. Аналіз PERMANOVA не виявив статистично важливих відмінностей між досліджуваними групами зразків, що вказує на гомогенність видового складу набору даних. В роботі описано результати біоінформатичної детекції генів анти-мікробної резистентності, найпоширенішим з яких був *qacG*, ймовірно пов'язаний із посиленням використанням дезінфектантів. Аналогічно до таксономічного профілю, профіль субрезистому був відносно рівномірним за своїм складом.

Таким чином, основним результатом цієї роботи є перший інтегративний огляд таксономічної та резистомної структури мікробіому метро Києва. Отримані дані можуть слугувати базисом для оцінки екологічних змін, ризиків поширення резистентності та розробки протоколів санітарного моніторингу. Подальші дослідження за використання метатранскриптоміки та з розширенням географії зразків дозволять уточнити метаболічну активність мікробіоти та її потенційний вплив на здоров'я населення.

Список використаних джерел

- [1] Afshinnekoo E. et al., [Geospatial resolution of human and bacterial diversity with city-scale metagenomics](#), *Cell Systems* **1** (2015), no. 1, 72–87.
- [2] Alcock B.P. et al., [CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the comprehensive antibiotic resistance database](#), *Nucleic Acids Res.* **51** (2023), D690–D699.
- [3] Benjamin L., Index zone by BenLangmead, <https://benlangmead.github.io/aws-indexes/k2>.
- [4] Bongiovanni D. et al., [Impact of urbanization on antimicrobial resistance in soil microbial communities](#), *Sci. Rep.* **15** (2025), 633.
- [5] Bruno B., [The microbiome of the built environment: The nexus for urban regeneration for the cities of tomorrow](#), *Microorganisms* **10** (2022), no. 12, 2311.
- [6] Chen S. et al., [fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor](#), *Bioinformatics* **34** (2018), no. 17, i884–i890.
- [7] Chen Y. et al., [Environmental determinants and demographic influences on global urban microbiomes, antimicrobial resistance and pathogenicity](#) *Biofilms and Microbiomes* **9** (2023), no. 1, 94.
- [8] Clausen P.T.L.C., Frank M. Aarestrup F.M., Lund O., [Rapid and precise alignment of raw reads against redundant databases with KMA](#), *BMC Bioinformatics* **19** (2018), 307.
- [9] Coyne S. et al., [Overexpression of resistance-nodulation-cell division pump *adeFGH* confers multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*](#), *Antimicrobial Agents Chemotherapy* **54** (2010), no. 10, 4389–4393.
- [10] Danko D. et al., [A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance](#), *Cell* **184** (2021), no. 13, 3376–3393.
- [11] Di Tommaso P. et al., [Nextflow enables reproducible computational workflows](#), *Nature Biotechnology* **35** (2017), no. 4, 316–319.
- [12] Ewels P. et al., [MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report](#), *Bioinformatics* **32** (2016), no. 19, 3047–3048.
- [13] Guevarra R.B. et al., [Metagenomic characterization of bacterial community and anti biotic resistance genes found in the mass transit system in Seoul, South Korea](#), *Ecotoxi cology and Environmental Safety* **246** (2022), 114176.
- [14] Heir E., Sundheim G., Holck A.L., [The *qacG* gene on plasmid pST94 confers resistance to quaternary ammonium compounds in staphylococci isolated from the food industry](#), *J. Appl. Microbiol.* **86** (1999), no. 3, 378–388.
- [15] van Hoek A.H.A.M. et al., [Acquired antibiotic resistance genes: an overview](#), *Front. Microbiol.* **2** (2011), 203.
- [16] Howard A. et al., [Acinetobacter baumannii: An emerging opportunistic pathogen](#), *Virulence* **3** (2012), no. 3, 243–250. 26.04.2025).

-
- [17] Li H., [Microbiome, metagenomics, and high-dimensional compositional data analysis](#), *Ann. Rev. Stat. Appl.* **2** (2015), no. 1, 73–94.
 - [18] Lu J. et al., [Bracken: estimating species abundance in metagenomics data](#), *PeerJ Computer Sci.* **3** (2017), e104. 01.05.2025).
 - [19] Lu J. et al., [Metagenome analysis using the Kraken software suite](#), *Nature Protocols* **17** (2022), no. 12, 2815–2839.
 - [20] Oksanen J. et al., [Community ecology package](#), CRAN: Contributed Packages, 2001.
 - [21] Parajuli A. et al., [Urbanization reduces transfer of diverse environmental microbiota indoors](#), *Front. Microbiol.* **9** (2018), 84.
 - [22] Peddada S., Lin H., [Multi-group analysis of compositions of microbiomes with covariate adjustments and repeated measures](#), *Res. Square* (2023), rs.3.rs—2778207.
 - [23] Peimbert M., Alcaraz L.D., [Where environmental microbiome meets its host: Subway and passenger microbiome relationships](#), *Molecular Ecology* **32**, (2023), no. 10, 2602–2618.
 - [24] Reith F. et al., [Mechanisms of gold biomineralization in the bacterium *Cupriavidus metallidurans*](#), *Proc. Nat. Acad. Sci.* **106** (2009), no. 42, 17757–17762.
 - [25] Satari L., Iglesias A., Porcar M., [The microbiome of things: appliances, machines, and devices hosting artificial niche-adapted microbial communities](#), *Microorganisms* **11** (2023), no. 6, 1507.
 - [26] Shen W., Ren H., [TaxonKit: A practical and efficient NCBI taxonomy toolkit](#), *J. Genetics Genomics* **48** (2021), no. 9, 844–850.
 - [27] WHO Bacterial Priority Pathogens List 2024: Bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and strategies to prevent and control antimicrobial resistance, Geneva, World Health Organization, 2024.
 - [28] Zuo T., [Urbanization and the gut microbiota in health and inflammatory bowel disease](#), *Nature Rev. Gastroenterology Hepatology* **15** (2018), no. 7, 440–452.
 - [29] У київському метрополітені дезінфікують поїзди та поручні, Вечірній Київ, 14 бер. 2020, <https://vechirniy.kyiv.ua/news/39941/>.

Exploring the microbiome of Kyiv Metro and identifying antibiotic resistance genes using modern methods of metagenomics and bioinformatics

Valeriia Ye. KANTSYPА ¹, Dmytro S. HORYSLAVETS ²,
Tetiana V. YESKOVA ³, Alina O. FROLOVA ⁴

- 1) *Educational Scientific Institute of High Technologies,
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine*
E-mail: kantsypa.valeriia@knu.ua
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5525-4892>
- 2) *Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine;
Kyiv Academic University, Kyiv, Ukraine*
E-mail: nepotlet@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6780-0235>
- 3) *Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine*
E-mail: tetiana.yeskova@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-8360-505X>
- 4) *Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine;
Kyiv Academic University, Kyiv, Ukraine*
E-mail: fshodan@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5469-7366>

Received May 12, 2025, in the final form May 12, 2025

<https://doi.org/10.3842/confKAU.2025.biol.02>

Abstract. One of the pressing issues of today is the study of the microbiome of the urban environment due to the rapid acquisition of antibiotic resistance by pathogenic microbes, especially in public mass transit systems. Large-scale studies of microbial communities became possible with the development of sequencing technologies and metagenomics, a study of all genetic material in a given environment, which provides insight into its taxonomical and functional profiles. At the same time, locations in Kyiv have not been studied for pathogenic microorganisms using whole-genome sequencing. This work presents a metagenomic analysis of samples collected at five underground stations of the Obolonsko-Teremkivska line of the Kyiv subway. Microorganisms were taxonomically identified, along with the core microbiome and potentially pathogenic species, and antimicrobial resistance genes were screened. We found that the samples have a high overall homogeneity, and a core microbiome is formed mainly by taxa inherent to the human organism. Resistance genes were identified, the most common of which was *qacG*, probably associated with the use of disinfectants. The results of this work can significantly affect the understanding of how resistance genes spread, as well as contribute to further research into the environment of the city of Kyiv.

Keywords: microbiome; transit systems; Kyiv metro; metagenomics; urban environment; antimicrobial resistance; bioinformatics