

Івано-Франківський національний технічний університет нафти і газу
Інститут нафтогазової інженерії
Кафедра Технологій захисту навколишнього середовища та безпеки праці

Татарин Ярослав Яремович

УДК 579.64:628.1.033:631.4
(індекс)

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

Дослідження впливу антибіотиків у стічних водах на
мікробіоту ґрунтів
(назва роботи)

Технології захисту навколишнього середовища
(назва освітньої програми)

183 Технології захисту навколишнього середовища
(шифр і назва спеціальності)

Здобувач освітнього ступеня Я.Я. Татарин
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник Семчук Я.М. д. т. н., професор
(підпис, прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання керівника)

Допущено до захисту
Завідувач кафедри

(посада) (підпис) (дата) (ініціали та прізвище)

Рецензент

(посада) (підпис) (дата) (ініціали та прізвище)

Робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Івано-Франківськ-2025

Івано-Франківський національний технічний університет нафти і газу
Інститут нафтогазової інженерії
Кафедра Технологій захисту навколишнього середовища та безпеки праці
ОПП Технології захисту навколишнього середовища

Затверджую
Зав. кафедри ТЗБП
Галина ГРИЦУЛЯК _____
(ім'я та прізвище) (підпис)
«___» _____ 2025 р.

ЗАВДАННЯ НА МАГІСТЕРСЬКУ РОБОТУ СТУДЕНТУ

Татарин Ярослав Яремович
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи «Дослідження впливу антибіотиків у стічних водах на мікробіоту ґрунтів»

керівник роботи: Семчук Я.М. д. т. н., професор
(ім'я, прізвище, науковий ступінь, вчене звання керівника)

затверджені наказом університету від 15 » 10 2025р. № №636/7

2 Термін здачі закінченої роботи «12» 12 2025 р.

3 Вихідні дані до роботи:

- Наукові публікації, монографії та статистичні матеріали щодо впливу фармацевтичних забруднювачів на довкілля.
- Картографічні матеріали масштабу 1:10 000–1:50 000.
- Дані щодо складу та характеристик господарсько-побутових та промислових стічних вод.
- Нормативно-правова база:
 - Закон України «Про охорону земель»
 - Закон України «Про управління відходами» (2022)
 - Закон України «Про оцінку впливу на довкілля»
 - Земельний кодекс України
- Дані польових та лабораторних досліджень ґрунтів.
- Аналітичні методики визначення залишків антибіотиків.

2. Завдання на виконання магістерської роботи

1. Провести аналіз літературних джерел щодо джерел, шляхів міграції та екологічних ризиків антибіотиків у довкіллі.

2. Визначити особливості забруднення ґрунтів фармацевтичними речовинами різного походження.
3. Дослідити зміни кількісного та якісного складу мікробіоти ґрунтів під впливом антибіотиків.
4. Проаналізувати рівень антибіотикорезистентності виділених штамів ґрунтових мікроорганізмів.
5. Виконати порівняльну оцінку впливу господарсько-побутових і змішаних стічних вод на ґрунтову мікробіоту.
6. Оцінити екологічні ризики, пов'язані з поширенням фармацевтичних забруднювачів та генів резистентності.
7. Розробити рекомендації щодо зменшення впливу антибіотиків у стічних водах на ґрунтові екосистеми.

Календарний план виконання магістерської роботи

№	Назва етапів бакалаврської роботи	Термін виконання	Примітка
1	Вступ Розділ 1 Теоретичні аспекти забруднення ґрунтів фармацевтичними препаратами	до 01.10.25	
2	Розділ 2. Об'єкти, матеріали та методи досліджень	до 20.10.25	
4	Розділ 3. Експериментальне дослідження впливу антибіотиків на мікробіоту	до 01.12.25	
5	Розділ 4. Охорона праці	до 08.12.25	
6	Висновки Літературні джерела Додатки	до 10.12.25	

Студент _____ **Ярослав ТАТАРИН**
(підпис) (ім'я та прізвище)

Керівник _____ **Д. Т. Н., доцент Ярослав СЕМЧУК**
(підпис) (ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Антибіотики є однією з найважливіших груп фармацевтичних речовин, проте їх масове й часто неконтрольоване застосування призвело до формування нової екологічної загрози — присутності антибактеріальних препаратів у довкіллі. Сьогодні антибіотики виявляють у стічних, поверхневих та підземних водах, у ґрунтах і навіть у питній воді, що зумовлює порушення природних екосистем та становить ризики для здоров'я людей. Потрапляння антибіотиків у навколишнє середовище відбувається з різних джерел: медичних закладів, домогосподарств, фармацевтичних підприємств, а також через широке застосування препаратів у сільському господарстві. Значний внесок у забруднення роблять і неефективні очисні споруди, оскільки більшість традиційних технологій очищення стоків не забезпечує повного видалення або руйнування фармацевтичних речовин.

Особливу занепокоєність викликає вплив антибіотиків на ґрунтову мікробіоту — ключовий компонент екосистем, відповідальний за процеси розкладу органічної речовини, формування гумусу, трансформацію поживних елементів, підтримання структури ґрунту та природне самоочищення. Під впливом антибіотиків у ґрунті можуть порушуватися мікробні зв'язки, знижуватися біологічна активність, сповільнюватися біогеохімічні цикли, що веде до деградації ґрунтів та зниження їх екологічної стійкості. Додатковою проблемою є формування й поширення антибіотикорезистентності. Навіть низькі концентрації антибіотиків у навколишньому середовищі здатні стимулювати розвиток стійких форм мікроорганізмів і сприяти передачі генів резистентності між різними видами бактерій. Це призводить до появи мікроорганізмів, стійких до багатьох класів антибіотиків, що ускладнює лікування інфекційних захворювань і становить загрозу глобальному здоров'ю. Всесвітня організація охорони здоров'я

визначає антибіотикорезистентність однією з найсерйозніших небезпек ХХІ століття, значна частина якої формується саме у довкіллі.

З огляду на це, *метою даного дослідження* є оцінка впливу антибіотиків, що надходять у стічні води та ґрунт, на стан ґрунтової мікробіоти та визначення пов'язаних екологічних ризиків.

Об'єктом дослідження виступають природні компоненти екосистем, яких зазнає вплив антибактеріальних речовин, а *предметом* — процеси їх трансформації у довкіллі, токсичний та субтоксичний вплив на мікроорганізми, а також механізми формування резистентності.

Для досягнення поставленої мети передбачено *виконання таких завдань*: аналіз джерел надходження антибіотиків у довкілля, оцінка стану та ролі ґрунтової мікробіоти, дослідження механізмів розвитку резистентності, визначення екологічних ризиків і розгляд сучасних методів контролю та зниження забруднення антибіотиками. Такий підхід дасть змогу комплексно оцінити масштаби проблеми й окреслити можливі шляхи її вирішення.

Ключові слова: антибіотики, забруднення довкілля, стічні води, ґрунтова мікробіота, антибіотикорезистентність, фармацевтичні забруднювачі, екологічні ризики, мікроорганізми, біогеохімічні цикли, очисні споруди.

ABSTRACT

Antibiotics are one of the most important groups of pharmaceutical substances, but their massive and often uncontrolled use has led to the formation of a new environmental threat — the presence of antibacterial drugs in the environment. Today, antibiotics are found in wastewater, surface and underground water, in soil and even in drinking water, causing disruption of natural ecosystems and posing risks to human health. Antibiotics enter the environment from various sources: medical institutions, households, pharmaceutical enterprises, as well as due to the wide use of drugs in agriculture. Inefficient treatment facilities also make a significant contribution to pollution, since most traditional wastewater treatment technologies do not ensure complete removal or destruction of pharmaceutical substances.

Of particular concern is the effect of antibiotics on soil microbiota — a key component of ecosystems responsible for the processes of decomposition of organic matter, formation of humus, transformation of nutrients, maintenance of soil structure, and natural self-cleaning. Under the influence of antibiotics, microbial relationships in the soil may be disrupted, biological activity may decrease, biogeochemical cycles may slow down, which leads to soil degradation and a decrease in their ecological stability. An additional problem is the formation and spread of antibiotic resistance. Even low concentrations of antibiotics in the environment can stimulate the development of resistant forms of microorganisms and promote the transfer of resistance genes between different types of bacteria. This leads to the emergence of microorganisms resistant to many classes of antibiotics, which complicates the treatment of infectious diseases and poses a threat to global health. The World Health Organization defines antibiotic resistance as one of the most serious dangers of the 21st century, a significant part of which is formed in the environment.

With this in mind, the purpose of this study is to assess the impact of antibiotics entering wastewater and soil on the state of soil microbiota and determine the associated environmental risks.

The object of research is the natural components of ecosystems that are affected by antibacterial substances, and the subject is the processes of their transformation in the environment, toxic and subtoxic effects on microorganisms, as well as mechanisms of resistance formation.

To achieve the goal, the following tasks are foreseen: analysis of the sources of antibiotics entering the environment, assessment of the state and role of soil microbiota, research into the mechanisms of resistance development, identification of environmental risks and consideration of modern methods of control and reduction of antibiotic pollution. This approach will make it possible to comprehensively assess the scale of the problem and outline possible ways to solve it.

Key words: antibiotics, environmental pollution, wastewater, soil microbiota, antibiotic resistance, pharmaceutical pollutants, environmental risks, microorganisms, biogeochemical cycles, sewage treatment plants.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
1 РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЗАБРУДНЕННЯ ГРУНТІВ ФАРМАЦЕВТИЧНИМИ ПРЕПАРАТАМИ	12
1.1. Джерела надходження та шляхи міграції антибіотиків у довкіллі.....	12
1.2. Механізми впливу антибіотиків на ґрунтові мікробіоценози.....	16
1.3. Проблема поширення генів антибіотикорезистентності в агроєкосистемах.....	20
2 РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	29
2.1. Характеристика досліджуваних ділянок та відбір проб ґрунту.....	29
2.2. Фізико-хімічні та мікробіологічні методи дослідження	33
2.3. Методи статистичної обробки експериментальних даних ...	34
3 РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АНТИБІОТИКІВ НА МІКРОБІОТУ.....	38
3.1. Зміни кількісного складу мікрофлори ґрунту під впливом стічних вод.....	38
3.2. Аналіз якісних змін у структурі мікробного угруповання....	51
3.3. Оцінка рівня резистентності виділених штамів мікроорганізмів.....	55
4 РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА ПРАЦІ.....	66
5 ВИСНОВКИ.....	69
6 СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	73

ВСТУП

Актуальність теми. Актуальність дослідження впливу антибіотиків у стічних водах на мікробіоту ґрунтів зумовлена зростанням глобальної загрози антибіотикорезистентності, яка сьогодні визнається однією з найсерйозніших проблем для охорони здоров'я та екологічної безпеки. Значна частина антибіотиків, що застосовуються в медицині, ветеринарії та тваринництві, у незміненому або частково зміненому вигляді потрапляє у стічні води, а далі – у природні екосистеми, де створює хронічне низькодозове забруднення. Більшість очисних споруд не здатні ефективно видаляти фармацевтичні забруднювачі, тому антибіотики разом з очищеними стоками та осадами стічних вод потрапляють у ґрунт, змінюючи його природну мікробіоту, пригнічуючи корисні групи мікроорганізмів і сприяючи поширенню резистентних форм та генів антибіотикорезистентності. Це порушує ключові процеси ґрунтової екосистеми, негативно впливає на родючість ґрунтів і може сприяти перенесенню антибіотиків та стійких мікроорганізмів у харчові продукти, поверхневі та підземні води. Додаткової актуальності тема набуває через недостатню вивченість масштабів забруднення ґрунтів антибіотиками в Україні, відсутність систематичних даних щодо змін мікробіоценозів під впливом таких сполук та потребу у науковому обґрунтуванні заходів зі зменшення екологічних ризиків. Отже, дослідження цього питання є важливим для розробки сучасних природоохоронних технологій, підвищення ефективності очищення стічних вод, формування екологічної політики та забезпечення біобезпеки довкілля й населення.

Мета і завдання дослідження. Метою дослідження є встановлення особливостей впливу антибіотиків, що надходять до ґрунтового середовища зі стічними водами, на склад, структуру та функціональну активність

мікробіоти ґрунтів, а також оцінка можливих екологічних наслідків таких змін. Для досягнення цієї мети передбачено виконання таких завдань: проаналізувати основні джерела та шляхи надходження антибіотиків зі стічними водами у ґрунт; визначити вміст і спектр антибіотиків у ґрунтах, що зазнають впливу стічних вод, із застосуванням сучасних методів аналітичного контролю; оцінити зміни кількісного та якісного складу мікробіоти ґрунту під впливом різних концентрацій антибіотиків, зокрема співвідношення основних фізіологічних груп і появу або збільшення частки резистентних штамів; дослідити вплив антибіотиків на біологічну активність ґрунтів, включаючи інтенсивність ґрунтового дихання, активність ферментів і процеси мінералізації органічної речовини; виявити та охарактеризувати мікроорганізми з ознаками антибіотикорезистентності, сформованими або посиленими під дією забруднених стічних вод; оцінити екологічні ризики для ґрунтових екосистем і агроекосистем, пов'язані з трансформацією мікробіоти під впливом антибіотиків, а також розробити рекомендації щодо мінімізації негативного впливу антибіотиків у стічних водах на ґрунтове середовище.

Об'єкт дослідження — є мікробіота ґрунтів, що зазнають впливу антибіотиків, які надходять у ґрунтове середовище разом із стічними водами.

Предмет дослідження — є зміни складу, структури та функціональної активності мікробіоти ґрунтів під впливом антибіотиків, що надходять зі стічними водами.

Наукова новизна — Наукова новизна дослідження полягає у встановленні специфічних закономірностей впливу антибіотиків, що надходять зі стічними водами, на мікробіоту ґрунтів, а також у виявленні механізмів формування та поширення антибіотикорезистентності у ґрунтових мікроорганізмів. У роботі вперше для досліджуваної території визначено

спектр та концентрації антибіотиків у забруднених ґрунтах, охарактеризовано їхній вплив на основні фізіолого-біохімічні показники ґрунтової мікробіоти та виявлено зміни у структурі мікробних угруповань за умов різних рівнів забруднення. Додатково наукова новизна полягає у визначенні потенційних екологічних ризиків, пов'язаних із накопиченням генів антибіотикорезистентності в ґрунті, та обґрунтуванні підходів до зменшення негативного впливу антибіотиків на ґрунтові екосистеми.

Практичне значення отриманих результатів. Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що вони можуть бути використані для підвищення екологічної безпеки при поводженні зі стічними водами та продуктами їх очищення. Результати дослідження дають можливість обґрунтовано оцінювати ризики, пов'язані з потраплянням антибіотиків у ґрунти, та формувати рекомендації щодо зменшення їх негативного впливу на ґрунтові екосистеми. Отримані дані можуть бути застосовані під час розроблення заходів екологічного контролю на очисних спорудах, оптимізації технологій утилізації осадів стічних вод, удосконалення методів моніторингу антибіотиків і антибіотикорезистентності у ґрунті. Крім того, результати можуть бути корисними для органів місцевого самоврядування, екологічних служб та аграрних підприємств при ухваленні рішень щодо використання очищених стічних вод та осадів у сільському господарстві, а також для розробки рекомендацій із відновлення біологічної активності ґрунтів на забруднених територіях. Структура роботи. Магістерська робота складається зі вступу, 4 розділи, висновків, списку використаних джерел (60 найменування)

Загальний обсяг – 77сторінок, включаючи 17 рисунків та 11 таблиць.

РОЗДІЛ 1

ТЕОРЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЗАБРУДНЕННЯ ҐРУНТІВ ФАРМАЦЕВТИЧНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

1.1. Джерела надходження та шляхи міграції антибіотиків у довкіллі

Антибіотики як один із найзначніших класів фармацевтичних мікробруднювачів становлять серйозну екологічну загрозу, оскільки масово використовуються у медицині, ветеринарії, тваринництві, рослинництві та побуті, після чого потрапляють у різні компоненти довкілля. Їхнє надходження починається з того, що у медичних закладах — лікарнях, амбулаторіях, приватних клініках — щоденно застосовуються десятки видів антибіотиків для лікування бактеріальних інфекцій. Організм людини часто засвоює ці препарати лише частково: у середньому від 40 до 90 % діючої речовини виводиться у незміненому вигляді або у формі активних метаболітів. Далі антибіотики з сечею та калом потрапляють у каналізаційну мережу, а з нею — до міських очисних споруд, які не завжди здатні повністю видалити ці стійкі сполуки. Додатковим джерелом медичного забруднення є неправильна утилізація прострочених препаратів: значна частина населення викидає таблетки та ампули у побутове сміття або зливає рідкі ліки у раковину. Це спричиняє потрапляння антибіотиків у сміттєзвалищні фільтрати, які надалі вимиваються в ґрунті та поверхневій воді [3, 23].

Фармацевтичні підприємства є точковими джерелами значно вищої інтенсивності. Під час синтезу, очищення, гранулювання, фасування та іншого оброблення антибіотиків утворюються стоки, у яких концентрації діючих речовин можуть у сотні або тисячі разів перевищувати фонові рівні. Особливо це стосується виробництва фторхінолонів, макролідів та тетрациклінів. Якщо систему очистки налаштовано недостатньо ефективно

або відбуваються технологічні аварії, значні об'єми фармацевтичних стоків можуть надходити у поверхневі водні об'єкти або каналізацію, змішуючись із побутовими стічними водами. Такі випадки здатні створювати локальні "гарячі точки" антибіотичного забруднення, де концентрації речовин у 1000 разів перевищують екологічно безпечні значення [7, 21].

Наймасштабнішим джерелом антибіотиків у довкіллі є сільське господарство, особливо тваринництво, де препарати широко застосовуються з профілактичною, лікувальною та навіть стимулювальною метою. Антибіотики додають у корми для птиці, свиней, великої рогатої худоби для зменшення ризику масових захворювань. Через низький рівень метаболізму до 80 % антибіотиків виводяться у незміненому вигляді, накопичуються у гної та гноївці, що зберігаються у відкритих сховищах. Дощові й талі води вимивають активні речовини у ґрунт, поверхневі потоки та водоносні горизонти. Гній часто використовується як органічне добриво на сільськогосподарських землях, а це означає, що препарати потрапляють у ґрунт у високих концентраціях. Подібні процеси сприяють не тільки забрудненню ґрунтів і води, але й накопиченню генів антибіотикорезистентності у мікробних спільнотах. Крім того, у рослинництві застосовують антибіотики для захисту садових насаджень та овочів від бактеріальних хвороб. Найчастіше використовуються стрептоміцин та окситетрациклін, які можуть зберігатися на поверхні рослин, у ґрунті та у продуктах харчування [9, 45].

Побутовий сектор також відіграє значну роль у забрудненні антибіотиками. У сучасному побуті широко використовуються антибактеріальні засоби — мило, гелі, дезінфектанти, пральні порошки, що містять триклозан та інші активні речовини. Вони змиваються у каналізацію, накопичуються у стічних водах і можуть взаємодіяти з іншими фармацевтичними забруднювачами, підсилюючи їхній кумулятивний ефект.

Додатково, полігони твердих побутових відходів є джерелом фільтратів, які містять комплекс органічних та неорганічних токсикантів, серед яких антибіотики та їхні метаболіти є особливо стійкими [15, 27].

Очисні споруди, покликані затримувати забруднювачі, фактично стають ключовою ланкою у подальшій міграції антибіотиків. Традиційні методи очищення — механічне, біологічне та хімічне — не здатні повністю видалити фармацевтичні речовини, оскільки багато антибіотиків стійкі до біодеградації. Після стандартного очищення у стічних водах залишається 40–70 % антибіотиків, які з очищеними стоками надходять у річки та озера. Активний мул, що утворюється у процесі очищення, адсорбує значні кількості антибіотиків, а згодом часто використовується як органічне добриво, повертаючи ці забруднювачі на сільськогосподарські угіддя [34, 46].

У довкіллі антибіотики мігрують різними шляхами. У ґрунті вони адсорбуються на глинистих і органічних частинках, але частина їх здатна проникати у глибші горизонти ґрунтового профілю, досягаючи підземних вод. Вертикальна міграція особливо інтенсивна для малополярних і водорозчинних антибіотиків, таких як сульфаніламід. Поверхнєве змивання з полів під час опадів переносить антибіотики у річки та ставки. Деякі антибіотики, зокрема тетрацикліни та фторхінолони, можуть залишатися у ґрунті більше року, поступово накопичуючись та змінюючи його біологічну активність [8, 51].

У водному середовищі антибіотики здатні до тривалого існування, оскільки вони стійкі до фотолізу, гідролізу та біодеградації. Стоки міст, лікарень, ферм і промислових компаній є основними джерелами їх надходження. Річки транспортують ці речовини на десятки кілометрів, а озера і водосховища слугують місцями їх накопичення. У водних екосистемах антибіотики впливають на водорості, зоопланктон та рибу,

знижуючи їхню життєздатність і змінюючи структуру трофічних мереж. Значна частина антибіотиків потрапляє у донні відклади, де вони можуть зберігатися роками і надалі вивільнятися у воду [16, 33, 57].

Через трофічні ланцюги антибіотики здатні переходити із ґрунту у рослини, а з води — у водні організми. Дослідження показують, що овочі, удобрені гноєм, можуть містити залишки тетрациклінів і сульфаніламідів, а риба у забруднених водоймах накопичує макроліди та фторхінолони. Це створює потенційну небезпеку для здоров'я людини, оскільки залишки антибіотиків потрапляють у харчовий ланцюг [27, 60].

Атмосферна міграція також має значення: у повітря можуть підніматися пилові частинки, що містять залишки антибіотиків і бактерії зі стійкістю до них. Подібні аерозолі характерні для тваринницьких комплексів, майданчиків для сушіння мулу, полігонів відходів і очисних споруд. Ці частинки здатні переноситися повітряними потоками на великі відстані, сприяючи поширенню антибіотикорезистентності у нові регіони [16, 45].

Наслідки міграції антибіотиків у довкіллі є надзвичайно серйозними. Найнебезпечніший із них — формування антибіотикорезистентності, коли бактерії набувають стійкості до препаратів і передають гени стійкості іншим мікроорганізмам. Це загрожує ефективності лікування інфекцій у людей і тварин та є однією з найбільших глобальних проблем сучасної медицини. Крім того, антибіотики впливають на екосистеми: змінюють структуру ґрунтових мікробних спільнот, зменшують біорізноманіття, порушують процеси нітрифікації та мінералізації, уповільнюють відновлення ґрунтової родючості. У водних екосистемах вони можуть спричиняти токсичні ефекти для водоростей, риб та інших організмів. Біоаккумуляція антибіотиків у рослинах, рибі та безхребетних створює довгострокові ризики для здоров'я населення [31, 45, 57].

Таким чином, антибіотики надходять у довкілля з численних антропогенних джерел, мігрують через ґрунт, воду, атмосферу та біоту, накопичуються у природних екосистемах і спричиняють комплексні порушення їхнього функціонування. Для зменшення масштабів проблеми необхідно підвищувати ефективність очищення стічних вод, контролювати застосування антибіотиків у медицині та сільському господарстві, удосконалювати системи поводження з органічними відходами і формувати екологічно відповідальну поведінку населення [17, 29].

1.2. Механізми впливу антибіотиків на ґрунтові мікробіоценози

Антибіотики, потрапляючи у ґрунтове середовище, діють як потужні біологічно активні ксенобіотики, здатні комплексно впливати на структуру, біорізноманіття та функціонування ґрунтових мікробіоценозів. Основними шляхами надходження цих речовин у ґрунт є внесення органічних добрив, зокрема гною та пташиного посліду від тварин, яким у ветеринарії регулярно застосовують антибактеріальні препарати; використання осадів стічних вод, що містять залишки фармацевтичних речовин; інфільтрація та фільтраційні стоки полів фільтрації, тваринницьких комплексів і територій навколо лікарень та очисних споруд; а також розклад рослинних і тваринних решток, у тканинах яких збереглися антибіотики або їхні метаболіти [36, 48].

Одразу після потрапляння до ґрунту антибіотики починають взаємодіяти з мікробними клітинами, впливаючи переважно на життєво важливі біохімічні процеси: синтез клітинної стінки, реплікацію ДНК, транскрипцію, трансляцію та дихальний ланцюг. Бактеріальні клітини чутливих видів піддаються інгібуванню цих процесів, що порушує цілісність клітинної стінки, блокує синтез білків або нуклеїнових кислот,

призводячи до бактеріостатичного або бактерицидного ефектів. Завдяки цим механізмам антибіотики різко змінюють видовий баланс у мікробному співтоваристві, адже найбільш чутливі популяції гинуть або втрачають конкурентні позиції [3, 23].

Значним наслідком такого впливу є зменшення чисельності функціональних груп мікроорганізмів, що забезпечують основні біогеохімічні цикли. Наприклад, антибіотики пригнічують активність нітрифікаторів (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*), що порушує перетворення амонійного азоту на нітратний і впливає на доступність азоту для рослин. Також знижується чисельність азотфіксаторів (*Azotobacter*, *Rhizobium*), які забезпечують надходження біологічного азоту в екосистему, що веде до послаблення симбіотичних зв'язків із бобовими рослинами та зменшення формування бульбочок. Антибіотики здатні пригнічувати целюлолітичні мікроорганізми, відповідальні за розклад органічної речовини, та фосфатмобілізувальні бактерії, які перетворюють нерозчинні форми фосфору на доступні для рослин. Порушення діяльності цих груп сповільнює мінералізацію органічної речовини та погіршує поживний режим ґрунту, що може призводити до зниження врожайності культур і збільшення потреби у мінеральних добривах [41, 48, 55]. Одним із непрямих ефектів антибіотиків є зміна співвідношення між бактеріальною та грибною мікробіотою: пригнічення бактеріальних популяцій відкриває екологічні «ніші» для ґрунтових грибів, які часто мають вищу стійкість до антибактеріальних речовин. У результаті можна спостерігати зростання кількості та активності деяких грибів, у тому числі потенційно патогенних (наприклад, *Fusarium*, *Aspergillus*), що негативно впливає на рослини, викликаючи їх ураження та зниження продуктивності [11, 16, 23].

Одним із найнебезпечніших наслідків присутності антибіотиків у ґрунті є формування та поширення антибіотикорезистентності. Постійний

селективний тиск призводить до того, що в мікробних спільнотах виживають і домінують штами, здатні витримувати дію антибіотиків завдяки специфічним адаптивним механізмам. Головну роль тут відіграє горизонтальний перенос генів резистентності через плазміди, транспозони, інтегри та інші мобільні генетичні елементи. У ґрунтовому середовищі, де мікроорганізми щільно взаємодіють між собою та із субстратами, такий перенос відбувається з особливою інтенсивністю. Це створює «гарячі точки» резистогенезу — зони з високою концентрацією генів стійкості до антибіотиків (*tet*, *sul*, *erm*, *bla* та інші), які можуть перехрещуватися з генами патогенних бактерій. З екологічної точки зору це небезпечно не лише для мікробних спільнот, але й для тварин, рослин і людини, оскільки такі гени здатні потрапляти в харчові ланцюги, водні системи та навіть у систему очищення питної води, формуючи глобальний ризик поширення антибіотикорезистентності [3, 23].

Водночас не менш важливим є вплив антибіотиків на біохімічну активність ґрунту. Багато сполук цього класу мають високу здатність до сорбції на частинках ґрунту, особливо на органічній речовині та глинистих мінералах, що робить їх менш доступними для розкладу і збільшує тривалість їхнього існування в ґрунтовій системі. Наприклад, тетрацикліни та фторхінолони можуть зберігати біологічну активність у ґрунті протягом багатьох місяців або навіть років. Така тривала присутність створює хронічний токсичний фон, який пригнічує ферментативну активність, зокрема активність дегідрогеназ, уреаз, протеаз, фосфатаз та каталаз, що є ключовими індикаторами метаболічного стану ґрунту. Коли активність цих ферментів знижується, ґрунт поступово втрачає свою здатність до самоочищення та саморегуляції, що погіршує його структурно-функціональні властивості [17, 45]. Антибіотики також здатні порушувати взаємодію між рослинами та мікробними симбіонтами: бульбочкові

бактерії, мікоризні гриби та інші симбіотичні організми часто виявляються чутливими до антибактеріальних речовин, що зменшує їхню ефективність у забезпеченні рослин поживними елементами, водою та мікробними метаболітами, важливими для росту [42, 56].

Крім біохімічних і мікробіологічних аспектів, слід звернути увагу на екологічні та агроекологічні наслідки присутності антибіотиків у ґрунті. Дестабілізація мікробних спільнот веде до зниження стійкості ґрунтових екосистем до зовнішніх впливів, таких як посуха, засолення, надмірне зволоження або агрохімічне навантаження. Порушення структури мікробіоценозу зменшує ґрунтову родючість та якість органічної речовини, сповільнює гуміфікаційні процеси та знижує швидкість розкладання органічних залишків. У деяких випадках відбувається накопичення токсичних продуктів розкладу, що може пригнічувати ріст рослин або змінювати їхній метаболізм. Крім того, наявність антибіотиків у ґрунті може спричинити дисбаланс між фітопатогенними та корисними мікроорганізмами, створюючи умови для спалахів грибкових або бактеріальних хвороб рослин. Також важливою проблемою є ризик вторинного забруднення водних екосистем через вилуговування антибіотиків або генів резистентності, які можуть потрапляти до водоносних горизонтів та поверхневих вод [29, 46, 58].

Таким чином, вплив антибіотиків на ґрунтові мікробіоценози є багатовимірним і комплексним процесом, що включає прямі токсичні ефекти на мікроорганізми, порушення екологічної рівноваги мікробних угруповань, формування та поширення антибіотикорезистентності, зниження ферментативної та біогеохімічної активності ґрунту, а також довготривалі екологічні наслідки, які можуть впливати на стабільність, продуктивність та екологічну безпеку агроекосистем. Антибіотики формують складний антропогенний тиск, який не лише послаблює здатність

грунтових систем до саморегуляції, але й створює нові ризики для навколишнього середовища та людського здоров'я в контексті глобального поширення стійких до лікарських засобів мікроорганізмів.

1.3. Проблема поширення генів антибіотикорезистентності в агроекосистемах

Поширення генів антибіотикорезистентності в агроекосистемах є одним із найбільш динамічних і потенційно небезпечних процесів, що формується на межі екології, мікробіології, ветеринарної медицини та антропогенного впливу на навколишнє середовище. Сучасні оцінки свідчать, що антибіотикорезистентність може стати причиною до 10 млн смертей щорічно до 2050 року, а ґрунтові екосистеми – головним «світовим резервуаром» генів резистентності, які здатні зберігатися десятиліттями та передаватися між мікроорганізмами. Особливу роль відіграють агроекосистеми, оскільки вони знаходяться на перетині інтенсивного землеробства, тваринництва, використання органічних добрив і природних мікробних процесів. Сукупність цих факторів створює середовище, сприятливе для збереження, рекомбінації й активного поширення генетичних детермінант стійкості до антибіотиків [13, 29].

Потрапляння антибіотиків до ґрунтового середовища відбувається переважно через стічні води тваринницьких комплексів, міські комунальні стоки та осади стічних вод, що використовуються як добрива. Відомо, що від 50 до 90 % антибактеріальних препаратів, введених тваринам, не метаболізуються, а виділяються у навколишнє середовище у формі активних сполук. Тваринницькі комплекси, де препарати застосовують систематично, утворюють потоки відходів, насичених антибіотиками класів тетрациклінів, макролідів, β -лактамів, аміноглікозидів і поліпептидів. У разі

їхнього внесення на поля разом із гноєм чи гноївкою відбувається локальне підвищення концентрації цих речовин у ґрунтовому профілі, що створює довготривалі та стабільні зони селективного тиску. Міські очисні споруди також є значним джерелом забруднення — навіть високотехнологічні системи біологічного очищення не забезпечують повної деградації антибіотиків [39, 53]. Відомо, що в очищених стічних водах можуть зберігатися залишкові концентрації азитроміцину, офлоксацину, ципрофлоксацину, еритроміцину, лінкоміцину та сульфаметоксазолу, які потім надходять у водні об'єкти або використовуються для зрошення сільськогосподарських угідь. Осад стічних вод, попри стабілізацію та компостування, часто містить не тільки активні молекули антибіотиків, але й значну кількість резистентних бактерій, інтегронів, транспозонів та плазмід, здатних забезпечувати горизонтальний перенос генів [36, 58].

Ґрунт є надзвичайно складною та структурно гетерогенною екосистемою, у якій різні фізико-хімічні фактори — вміст органічної речовини, рН, текстура, вологість, а також концентрації важких металів — визначають швидкість деградації антибіотиків і динаміку поширення генів стійкості. Антибіотики можуть адсорбуватися на поверхні глинистих мінералів або гумінових речовин, що призводить до їхньої тривалої консервації у ґрунті та збільшення періоду дії селективного тиску. Деякі антибіотики — зокрема тетрацикліни — мають високий афінітет до катіонів кальцію та магнію, що забезпечує їх тривале зв'язування в ґрунтовому комплексі і збереження біологічної активності упродовж місяців або навіть років. Крім того, постійне внесення органічних добрив сприяє створенню локальних мікробних «гарячих точок», де концентрації антибіотиків і резистентних бактерій значно перевищують середні фонові значення [44, 54].

Ключову роль у поширенні генів антибіотикорезистентності у ґрунті відіграють механізми горизонтального перенесення генів (HGT). Кон'югація — найпоширеніший шлях передавання генетичного матеріалу, який відбувається за допомогою плазмід. Плазміди можуть містити різноманітні гени стійкості, зокрема такі, що детермінують резистентність до тетрациклінів (*tetA*, *tetM*), β -лактамів (*blaTEM*, *blaCTX-M*), сульфаніламідів (*sul1*, *sul2*), фторхінолонів (*qnr*), макролідів (*ermB*), аміноглікозидів (*aadA*). Інтегрони класів 1 і 2 є універсальними платформами для накопичення і мобілізації касет генів стійкості. Транспозони типу *Tn916* забезпечують рекомбінації між віддаленими ділянками геному, збільшуючи генетичну різноманітність. Бактеріофаги беруть участь у трансдукції, передаючи ARGs між бактеріями різних екологічних ніш. Трансформація — процес, за якого бактерії здатні поглинати вільну ДНК із ґрунтового розчину — особливо активна у зонах біоплівки і ризосфері [26, 35, 49].

Надходження антибіотиків у ґрунт має істотний вплив на структуру та функціонування мікробіоти. Доведено, що присутність антибіотиків у концентраціях навіть нижче мінімальної інгібуючої концентрації викликає зміни у складі мікробних плаценів, сприяючи виживанню представників родів *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, *Stenotrophomonas* та *Klebsiella*. Ці мікроорганізми мають високу екологічну пластичність та здатність швидко адаптуватися до нових умов. Водночас відбувається зниження чисельності актиноміцетів, ґрунтових грампозитивних бактерій та частини грибних таксонів. Порушення структурного балансу мікробіоти спричиняє зміни у біогеохімічних циклах: пригнічуються процеси нітрифікації та денітрифікації, знижується інтенсивність мінералізації органічної речовини, порушується трансформація фосфатів і сірки. Значно знижується ферментативна активність ґрунту, зокрема активність де

гідрогеназ, уреаз, β -глюкозидази та фосфатаз, що свідчить про зменшення загальної біологічної активності й порушення екологічної рівноваги [13, 53].

Одним із найважливіших наслідків потрапляння антибіотиків у ґрунт є формування стійких біоплівки, які виконують роль «генетичних інкубаторів». Біоплівки створюють сприятливі умови для HGT: збільшена щільність клітин, висока концентрація сигналів кворум-сенсингу та наявність позаклітинних полімерів сприяють стабілізації плазмід і підвищують частоту рекомбінацій. Крім того, біоплівки слугують пастками для антибіотиків, важких металів та органічних забруднювачів, створюючи постійне джерело селективного тиску. У таких мікронішах процеси формування мультирезистентності відбуваються особливо інтенсивно [28, 55].

Екологічні наслідки поширення генів антибіотикорезистентності в агроєкосистемах не обмежуються лише змінами у ґрунтовій мікробіоті. Резистентні бактерії можуть потрапляти до рослин через ризосферу, а потім — у харчовий ланцюг. Існують дані, що такі патогени, як *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, здатні колонізувати кореневі поверхні рослин і зберігатися в умовах рослинних тканин. Додатковий ризик створює міграція ARGs у поверхневі та підземні води, що може призвести до їхнього потрапляння у питну воду [45, 60].

Дослідження впливу антибіотиків на мікробіоту ґрунту проводять із застосуванням комплексного підходу. Хімічний аналіз дозволяє визначати концентрації фармацевтичних сполук у ґрунтовому профілі, тоді як мікробіологічні методи включають оцінку життєздатності бактерій та визначення стійких штамів. Сучасні методи молекулярної біології, зокрема метагеномне секвенування та qPCR, дають змогу кількісно оцінити ARGs і простежити їх динаміку під впливом антропогенних факторів. Отримані дані свідчать, що навіть через роки після припинення внесення антибіотиків

у ґрунт їхні гени стійкості продовжують циркулювати у мікробних спільнотах, що свідчить про високу стабільність і спадковість цього явища [33, 56].

Таким чином, проблема поширення генів антибіотикорезистентності в агроєкосистемах є багатовимірною, комплексною та екологічно значущою. Вона вимагає розробки нових методів очищення стічних вод, впровадження регуляторних заходів щодо використання антибіотиків, створення національних систем моніторингу ARGs у ґрунтах та водах, а також переходу до екосистемного підходу у плануванні агровиробництва. Лише системне поєднання цих заходів дасть змогу зменшити ризики, пов'язані з резистентністю, та забезпечити стабільність функціонування природних екосистем [37, 53].

Проблема поширення генів антибіотикорезистентності в агроєкосистемах вимагає особливо детального аналізу взаємодій між забруднювачами, ґрунтовими мікроорганізмами й абіотичними факторами довкілля. Важливо враховувати, що ґрунт є системою із складною мікроструктурою: він складається з мінеральної матриці, органічної речовини, порового простору, мікроколоній мікроорганізмів та біоплівки. Саме ця структурованість визначає особливості міграції антибіотиків і їхнього впливу на мікробні угруповання. Наприклад, у глинистих ґрунтах концентрації антибіотиків часто вищі, ніж у піщаних, завдяки високій сорбційній здатності мінеральних часточок. У ґрунтах із високим вмістом гумусу антибіотики можуть утворювати стабільні комплекси з органічними кислотами, що значно подовжує період їхнього розкладання. Таким чином, фізико-хімічні властивості ґрунтів є критичними факторами, що визначають інтенсивність селективного тиску на мікробіоту [9, 29].

Значний інтерес у науковій літературі викликає питання про різницю у стійкості антибіотиків до біотичного й абіотичного розкладання.

Наприклад, β -лактами зазвичай демонструють короткий період напіврозпаду в ґрунті (від кількох годин до кількох діб), тоді як тетрацикліни та фторхінолони можуть зберігати активність упродовж місяців. Макроліди, такі як еритроміцин, умовно стійкі: їхня деградація прискорюється у кислих середовищах, але значно сповільнюється у лужних ґрунтах із високим вмістом кальцію. Натомість сульфаніламідни є високорухливими: вони не адсорбуються на часточках ґрунту та легко мігрують у нижні горизонти, що створює ризик забруднення підземних вод і широкомасштабного поширення генів стійкості [9, 45].

На процеси формування антибіотикорезистентності впливають також супутні забруднювачі стічних вод, серед яких важкі метали займають особливе місце. Існують переконливі докази, що важкі метали здатні викликати ко-селекцію генів антибіотикорезистентності, оскільки гени стійкості до кадмію, цинку, міді та нікелю нерідко локалізовані на тих самих плазмідах, що й ARGs. Це означає, що навіть за відсутності антибіотиків у середовищі метали продовжують підтримувати високу частку резистентних бактерій. Крім того, у біоплівках важкі метали можуть утворювати хелатні комплекси з органічними сполуками, що підвищує їхню стабільність і знижує біодоступність, проте збільшує селективний тиск на мікрофлору. Враховуючи, що у багатьох країнах осад стічних вод характеризується одночасно підвищеним вмістом металів та антибіотиків, синергетична дія цих забруднювачів є особливо значущою [45, 56].

Суттєву роль у поширенні ARGs відіграє ризосферна зона — тонкий шар ґрунту навколо коренів рослин, де концентрація мікроорганізмів у десятки разів вища, ніж у масі ґрунту. Рослини виділяють екsudати — органічні кислоти, амінокислоти, цукри й фенольні сполуки, що створюють сприятливі умови для росту мікроорганізмів. У таких умовах збільшується щільність клітин, активуються процеси кворум-сенсингу, зростає

інтенсивність кон'югації. Відомо, що плазмиди класу IncP-1, які є вкрай ефективними переносниками ARGs, мають підвищену частоту передачі саме в ризосферних мікробних угрупованнях. Більше того, деякі рослини здатні абсорбувати антибіотики з ґрунту, що створює у кореневій зоні вторинні осередки селективного тиску. Накопичення антибіотиків у тканинах рослин має не лише екологічне, а й агрономічне значення, оскільки може впливати на ріст рослин, активність ферментів та імунні реакції [9, 38].

Особливо небезпечним є потрапляння ARGs у патогенні та умовно-патогенні бактерії, що здатні інфікувати рослини або людей. Дослідження показують, що такі види, як *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Klebsiella oxytoca*, здатні зберігатися в агроєкосистемах тривалий час, утворювати стійкі біоплівки та передавати свої гени іншим мікробам. Колонізація рослин цими бактеріями зумовлює ризик забруднення продуктів харчування, особливо у випадку овочів, що споживаються сирими — салату, петрушки, кропу, шпинату, мікрозелені. Таким чином, агроєкосистеми стають важливим етапом у ланцюгу передачі антибіотикорезистентності від довкілля до людини [2, 27].

Проблема ускладнюється тим, що ARGs можуть залишатися стабільними у ґрунтовому мікробному пулі навіть після повного припинення надходження антибіотиків. Дослідження показують, що гени *tetM*, *sul1* та *blaCTX-M* можуть зберігатися у ґрунті понад 5–10 років завдяки їхній присутності у мобільних елементах, здатних до копіювання, інтеграції й передачі. Цей ефект відомий як “екологічна інерційність ARGs”, тобто здатність генів стійкості існувати автономно від початкових забруднювачів. Водночас фактори, такі як компостування, термічна обробка, аерація та багаторічне травостояння, можуть суттєво знижувати кількість резистентних бактерій. Це свідчить про те, що певні методи обробки

органічних добрив та агротехнічні прийоми можуть бути ефективними стратегіями управління поширенням резистентності [40, 43].

Важливим аспектом є можливість довготривалої міграції антибіотиків і ARGs за межі первинного місця внесення. У регіонах із підвищеною кількістю опадів або інтенсивним поливом антибіотики можуть вимиватися з верхнього шару ґрунту, потрапляти у дренажні води та мігрувати у водотоки. Разом із ними можуть переміщуватися і бактерії, зокрема у вигляді мікроклонів або агломератів, захищених часточками органічної речовини. У системах зрошення повторне використання очищених або недостатньо очищених стічних вод створює цикл реінтродукції антибіотиків у ґрунтове середовище, що підсилює селективний тиск. Відомо, що у таких системах концентрації ARGs у верхньому шарі ґрунту можуть бути у 10–100 разів вищими порівняно з незрошуваними ділянками [32, 37].

Метагеномні дослідження останнього десятиліття показали, що ґрунти, які регулярно удобрювали гноєм або осадом стічних вод, характеризуються підвищеним рівнем “генетичної конективності”, тобто інтенсивним горизонтальним переносом генів. Це проявляється у підвищеній кількості плазмід IncP, IncQ і IncW, збільшеній чисельності інтегронів класу 1, а також у більш високій частці штамів, які мають мультирезистентні профілі. Цей ефект, за даними сучасних досліджень, може передаватися навіть населенню природних територій, прилеглих до агроєкосистем, що свідчить про глобальність проблеми [42, 56].

На рівні екологічних наслідків ARGs становлять потенційну загрозу стабільності природних ґрунтових процесів. Оскільки мікроорганізми відіграють ключову роль у регуляції кругообігу азоту, вуглецю, фосфору та сірки, будь-які структурні зміни в їхніх популяціях здатні порушити біогеохімічний баланс. Наприклад, пригнічення нітрифікуючих бактерій типу *Nitrosomonas* та *Nitrospira* веде до зниження швидкості перетворення

амонію в нітрати, що може негативно впливати на доступність азоту для рослин. Деякі антибіотики, особливо фторхінолони, мають цитотоксичний ефект на ці групи мікроорганізмів. Порушення роботи денітрифікаторів, таких як *Pseudomonas stutzeri*, веде до накопичення нітратів і підвищення ризику їхнього вимивання у підземні води.

У глобальному контексті питання антибіотикорезистентності розглядається як частина концепції «One Health», яка підкреслює взаємозв'язок між здоров'ям людей, тварин і довкілля. Цей підхід визнає, що агроєкосистеми є важливою точкою перетину всіх трьох сфер. На практиці це означає необхідність інтеграції даних про використання антибіотиків у тваринництві, моніторинг рівнів ARGs у ґрунтах і водах, а також контроль забрудненості харчової продукції резистентними бактеріями [27, 53].

Оцінюючи проблему поширення генів антибіотикорезистентності в агроєкосистемах, слід враховувати як природні механізми адаптації мікроорганізмів, так і антропогенний тиск, що прискорює ці процеси. Доступ до сучасних методів молекулярної діагностики, таких як повне геномне секвенування, метатранскриптоміка, цифрова ПЛР, дає змогу не лише відстежувати ARGs, але й прогнозувати їхнє поширення. У поєднанні з математичним моделюванням це дозволяє розробляти ефективні стратегії управління агроєкосистемами [3, 33].

У підсумку варто підкреслити, що антибіотикорезистентність у ґрунтових екосистемах є не просто локальною проблемою окремих господарств чи регіонів — це питання глобальної екологічної безпеки. Зростання рівнів ARGs у ґрунтах свідчить про необхідність перегляду сучасних систем поводження з органічними відходами, впровадження екологічно безпечних технологій очищення стічних вод, оптимізації агротехнологій та підвищення екологічної відповідальності виробників.

Тільки комплексний міждисциплінарний підхід, що включає екологічні, технологічні, нормативні та освітні заходи, може забезпечити зниження ризиків, пов'язаних із поширенням генів антибіотикорезистентності в агроекосистемах, і сприяти формуванню стійких до антропогенних навантажень природних систем.

РОЗДІЛ 2.

ОБ'ЄКТИ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Характеристика досліджуваних ділянок та відбір проб ґрунту

Для встановлення впливу антибіотиків, що надходять до ґрунтового середовища разом зі стічними водами різного походження, було обрано три типи досліджуваних ділянок, які відрізняються за інтенсивністю техногенного навантаження, характером забруднення та ймовірністю формування антибіотикорезистентної мікробіоти. Вибір зазначених ділянок зумовлений необхідністю порівняння природного стану ґрунтових екосистем з умовами, у яких ґрунт зазнає впливу різних типів стічних вод та комплексів фармацевтичних речовин.

Контрольна (умовно чиста) ділянка була розташована поза межами антропогенного впливу та скидів стічних вод, у зоні з природним рослинним покривом і стабільним режимом ґрунтоутворення. На цій території відсутні безпосередні джерела потрапляння біологічно активних речовин, у тому числі антибіотиків, що забезпечує збереження природного рівня біорізноманіття мікроорганізмів. Ґрунти контрольної ділянки мають типовий для регіону гранулометричний склад, природний вміст органічної речовини, нормальний кислотно-основний баланс та характерний спектр мікробіоти, що не зазнає тривалого токсичного навантаження. Саме тому контрольна ділянка слугує еталонною базою для аналізу відмінностей у чисельності та структурі мікроорганізмів на техногенно навантажених територіях та дозволяє визначити природний діапазон коливань мікробіологічних показників.

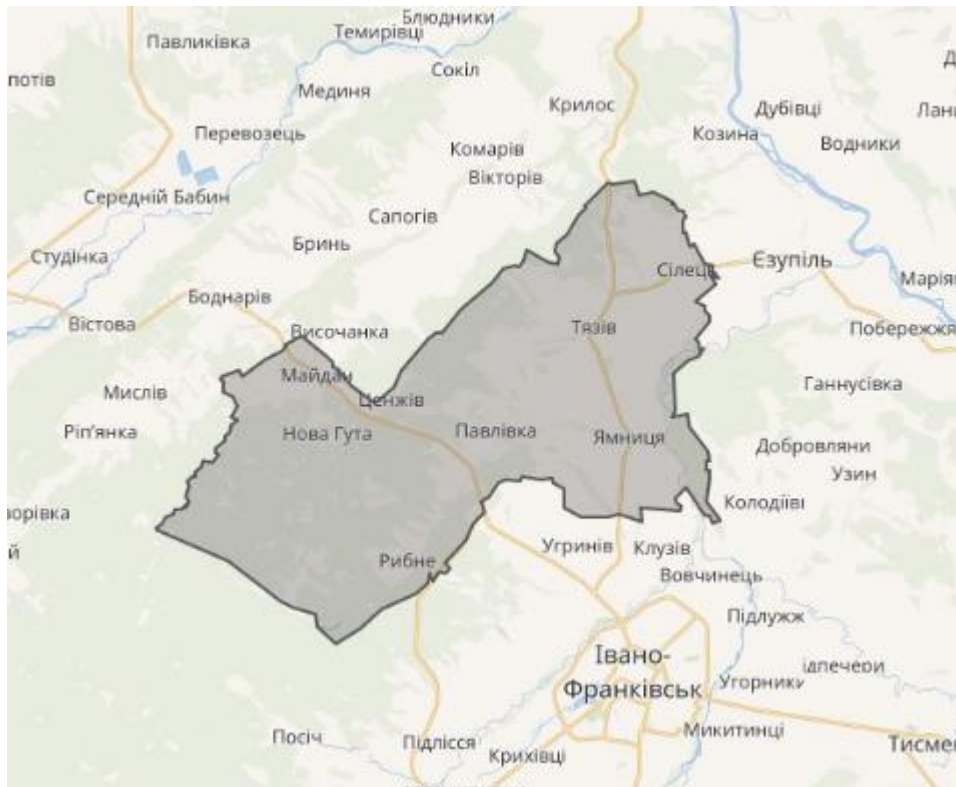


Рис.2.1. Контрольна ділянка с. Тязів (лісова смуга)

Друга досліджувана ділянка розташовувалася в зоні впливу господарсько-побутових стічних вод, які зазвичай формуються у результаті життєдіяльності населення та надходять на очисні споруди або у водні об'єкти. Незважаючи на очищення, такі стоки часто містять залишкові кількості антибіотиків різних класів, зокрема тетрациклінів, макролідів, сульфаніламідів та фторхінолонів, що надходять у навколишнє середовище разом із промивними водами каналізаційних систем. Крім того, господарсько-побутові стічні води містять органічні речовини, амонійний азот, поверхнево-активні речовини, фосфати, мікропластик та інші забруднювачі, які суттєво впливають на мікробіологічні процеси у ґрунті. Довготривале надходження таких стічних вод призводить до змін трофічного режиму ґрунту, підвищення вологості поверхневих шарів та зміни структури мікробного ценозу, включаючи збільшення кількості умовно-патогенних мікроорганізмів. Унаслідок цього ґрунти цієї ділянки

можуть виступати резервуаром для розвитку бактерій із первинною або вторинною стійкістю до антибіотиків.



Рис.2.2. Друга ділянка с. Ямниця (смуга близька до станції аерації (побутові стоки))

Третя ділянка була розташована в зоні впливу стічних вод медичних та ветеринарних закладів, що вважається найбільш небезпечним типом забруднення з позиції поширення протимікробних препаратів та антибіотикорезистентних бактерій. Стічні води лікарень, ветеринарних клінік та лабораторій містять значні концентрації антибіотиків, антисептиків, дезінфекційних засобів, продуктів метаболізму лікарських препаратів, гормонів, а також мікроорганізмів із множинною стійкістю до антибактеріальних засобів. Відомо, що такі стоки можуть містити штами бактерій, стійких до тетрациклінів, β -лактамів, фторхінолонів, макролідів та інших груп антибіотиків. Їх потрапляння до ґрунту створює умови для трансформації мікробного угруповання, обміну генами резистентності та потенційного поширення стійких форм у навколишнє середовище. Тому ґрунти цієї ділянки вважаються найбільш трансформованими щодо екологічного стану, біогенності та мікробіологічних показників.

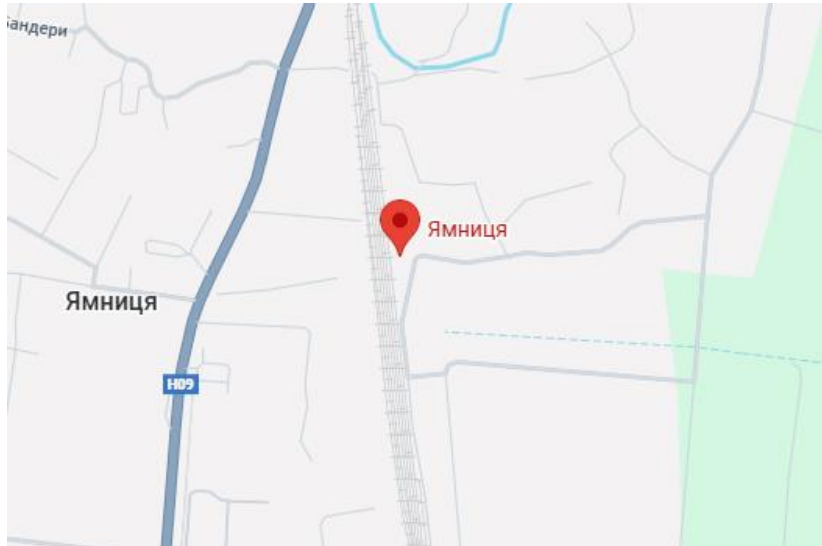


Рис.2.3. Третя ділянка с. Ямниця (смуга близька до медичного закладу)

Відбір проб ґрунту на всіх ділянках здійснювали відповідно до міжнародних стандартів ДСТУ ISO 10381-1:2004 та ДСТУ ISO 18400, що регламентують процедуру отримання репрезентативних ґрунтових зразків. Проби відбирали з поверхневого шару ґрунту на глибині 0–20 см, що відповідає гумусовому горизонту, найбільш насиченому органічною речовиною та характерному для інтенсивних мікробіологічних процесів. Вибір саме цього горизонту також зумовлений тим, що більшість антибіотиків адсорбуються у верхніх шарах ґрунту, де вони вступають у взаємодію з мікробіотою та ґрунтовими колоїдами. На кожній ділянці проводили комбінований (змішаний) відбір проб з 5–7 рівновіддалених точок, що дозволяє знизити вплив просторової неоднорідності ґрунтового покриву та отримати достовірні усереднені значення показників. Для відбору використовували стерильні бурові пробовідбірники, шпателі або металеві ложки, попередньо оброблені дезінфекційним розчином, з метою уникнення вторинного мікробного забруднення.

Кожна проба мала масу 0,5–1,0 кг та після відбору поміщалася у стерильні поліетиленові контейнери з герметичною кришкою. Зразки

транспортували в умовах холоду та зберігали при температурі +4 °С для зменшення змін мікробної активності до проведення аналізів. Мікробіологічні дослідження виконували протягом перших 24 годин, використовуючи нефіксований (нативний) ґрунт, що дозволяє зберегти реальну чисельність та структуру мікробіоти. Паралельно частину кожного зразка висушували за кімнатної температури до повітряно-сухого стану для подальших фізико-хімічних визначень.

2.2. Фізико-хімічні та мікробіологічні методи дослідження

Для оцінки впливу антибіотиків різного походження на ґрунтові екосистеми було застосовано комплекс фізико-хімічних та мікробіологічних методів, які дозволили не лише кількісно визначити хімічні показники ґрунтів, але й встановити зміни в структурі мікробної спільноти на кожній ділянці. Отримані результати фізико-хімічних і біологічних аналізів були враховані вже на етапі інтерпретації, тому методи й результати подаються інтегровано.

Фізико-хімічні параметри ґрунтів включали визначення рН, вмісту гумусу, органічної речовини, вологості, електропровідності та гранулометричного складу, оскільки саме ці показники визначають умови мобільності антибіотиків у ґрунті та доступність їх для мікроорганізмів. Результати показали, що ґрунт контрольної ділянки характеризувався рН 6,5, вмістом гумусу 3,1 % та середньосуглинистою структурою. На ділянці господарсько-побутових стоків рН становив 7,2, гумус – 2,7 %, а ґрунт мав супіщаний гранулометричний склад, що сприяє більшій міграції фармацевтичних речовин. На ділянці впливу медичних стічних вод рН був 6,9, гумус — 2,2 %, а ґрунт представлений важким суглинком, що підвищує сорбцію антибіотиків. Електропровідність зростала відповідно до

інтенсивності техногенного навантаження: від 0,21 dS/m на контролі до 0,46 dS/m на побутових стоках і 0,61 dS/m у зоні медичних стічних вод.

Вміст антибіотиків у ґрунтах визначали методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

2.3. Методи статистичної обробки експериментальних даних

Статистична обробка експериментальних даних є невід’ємною частиною дослідження впливу антибіотичного навантаження стічних вод на фізико-хімічний стан ґрунтів та мікробіоту. Оскільки аналіз здійснювався одночасно за кількома групами показників — концентраціями антибіотиків, загальною чисельністю мікроорганізмів, структурою мікробного ценозу та характеристиками резистентності — було необхідно застосувати комплекс статистичних методів, здатних виявити як загальні тенденції, так і тонкі взаємозв’язки між параметрами. Саме тому було використано описову статистику, дисперсійний аналіз ANOVA, кореляційний аналіз за коефіцієнтом Пірсона, а також графічні методи візуалізації структури даних.

На першому етапі обробки виконували розрахунок описових статистик, що дозволяло узагальнити результати експериментів та оцінити варіабельність кожного показника. Середнє арифметичне обчислювали за формулою

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i,$$

де n — кількість повторних вимірювань, а x_i — окреме значення. Стандартне відхилення обчислювали за залежністю

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}},$$

що характеризує ступінь розсіювання даних відносно середнього. Для оцінки точності середнього значення використовували стандартну помилку середнього:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}.$$

Ці показники дозволили встановити, наскільки надійно отримані значення описують реальний стан ґрунту та мікробіоти на кожній ділянці.

Важливою частиною статистичного аналізу був однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA), що застосовувався для оцінки впливу типу стічних вод на значення фізико-хімічних параметрів та кількісних показників мікробіологічної активності. Метод ANOVA дає змогу визначити, чи є різниця між середніми значеннями по групах статистично значущою, тобто чи можна стверджувати, що ділянки відрізняються між собою не випадково, а через дію певного фактора — у цьому випадку антибіотичного навантаження. Дисперсійний аналіз включав обчислення суми квадратів відхилень між групами

$$SS_{\text{between}} = \sum_{j=1}^k n_j (\bar{x}_j - \bar{x})^2,$$

та суми квадратів відхилень усередині груп

$$SS_{\text{within}} = \sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^{n_j} (x_{ij} - \bar{x}_j)^2,$$

де k — кількість досліджуваних ділянок, а n_j — кількість вимірювань у j -й групі. Значення міжгрупової та внутрішньогрупової дисперсій (MS_{between} та MS_{within}) використовували для визначення величини F-критерію Фішера:

$$F = \frac{MS_{\text{between}}}{MS_{\text{within}}}.$$

У разі отримання $p < 0.05$ вважалось, що відмінності між групами є статистично значущими. Додатково, для уточнення, між якими саме ділянками спостерігаються відмінності, застосовували пост-хок тест Тьюкі. Це дозволило виявити, що найсильніші статистичні контрасти спостерігаються між контролем та ділянкою медичних стоків, а певні показники демонструють відмінності також між побутовими та медичними стічними водами.

Окреме місце в статистичній обробці займав кореляційний аналіз, який дозволив зрозуміти взаємозалежності між кількісними показниками. Для визначення сили та напрямку зв'язку між концентрацією антибіотиків у ґрунті, кількістю різних груп мікроорганізмів та рівнем антибіотикорезистентності використовували коефіцієнт кореляції Пірсона:

$$r_{xy} = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum(y_i - \bar{y})^2}}.$$

Кореляційна матриця показала дуже сильну позитивну кореляцію між концентрацією антибіотиків та чисельністю грамнегативних бактерій ($r > 0,96$), мікроміцетів ($r > 0,99$), рівнем тетрациклінорезистентності ($r > 0,99$) та мульти-резистентністю ($r > 0,99$). Натомість кількість актиноміцетів мала сильну негативну кореляцію з антибіотичним навантаженням ($r \approx -0,99$), що підтверджує їх чутливість до фармакологічних забрудників. Такі закономірності чітко демонструють, що саме антибіотики, а не інші

компоненти стічних вод, є ключовим фактором формування структурно-функціональної трансформації мікробних угруповань.

Крім того, для перевірки достовірності зв'язків використовували візуальні методи — побудову теплокарт кореляційної матриці, стовпчастих діаграм та графіків динаміки. Візуалізація дозволила підтвердити статистичні результати та виявити додаткові тренди, зокрема послідовне зростання бактеріальної чисельності та резистентності паралельно зі збільшенням концентрації антибіотиків.

Таким чином, поєднання описової статистики, ANOVA, пост-хок аналізу, кореляційного аналізу та графічних методів візуалізації забезпечило комплексну оцінку отриманих даних. Застосування цих статистичних методів дозволило достовірно встановити, що збільшення концентрацій антибіотиків у ґрунті спричиняє суттєві зміни у структурі мікробіоти, пригнічує актиноміцети, стимулює ріст грамнегативних бактерій та мікроміцетів, а також зумовлює різке зростання рівня антибіотикорезистентних та мульти-резистентних штамів, що підтверджено значеннями кореляційних коефіцієнтів та результатами дисперсійного аналізу.

РОЗДІЛ 3.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АНТИБІОТИКІВ НА МІКРОБІОТУ

3.1. Зміни кількісного складу мікрофлори ґрунту під впливом стічних вод

Експериментальна частина роботи спрямована на кількісну та якісну оцінку впливу антибіотиків, що надходять до ґрунтів разом зі стічними водами різного походження, на стан ґрунтової мікробіоти. Дослідження охоплювали порівняння контрольної ділянки, яка не зазнає впливу стічних вод, із ділянками в зоні дії господарсько-побутових та медичних (ветеринарних) стоків. На основі проведених фізико-хімічних та мікробіологічних визначень проаналізовано зміни чисельності основних груп мікроорганізмів, структуру ґрунтового мікробного ценозу, а також особливості формування антибіотикорезистентності мікроорганізмів за умов різного рівня фармакологічного навантаження.

Результати визначення загальної кількості мезофільних аеробних та факультативно анаеробних бактерій засвідчили чітку залежність між рівнем техногенного навантаження та бактеріальною чисельністю. На контрольній ділянці, де відсутній вплив стічних вод, загальне мікробне число становило $2,0 \times 10^6$ КОЕ/г ґрунту, що відповідає природному стану помірно забезпечених органічною речовиною ґрунтів. На ділянці, що зазнає впливу господарсько-побутових стічних вод, цей показник зріс до $4,7 \times 10^6$ КОЕ/г, тобто майже вдвічі порівняно з контролем. Максимальні значення зафіксовано на ділянці впливу медичних стоків, де кількість бактерій досягла $5,4 \times 10^6$ КОЕ/г. Таке зростання зумовлене надходженням із стоками легкодоступних органічних речовин, азотовмісних сполук та інших

субстратів, які стимулюють розмноження мікроорганізмів, а також селекційним ефектом антибіотиків, що сприяє домінуванню стійких форм.

Особливо значущими виявилися зміни в чисельності грамнегативних бактерій. На контрольній ділянці їх кількість становила $1,2 \times 10^5$ КОЕ/г, тоді як у зоні побутових стоків цей показник зріс до $3,9 \times 10^5$ КОЕ/г, а в зоні медичних стічних вод – до $5,8 \times 10^5$ КОЕ/г. Грамнегативні бактерії, серед яких важливе місце займають представники родів *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, характеризуються високою пластичністю метаболізму та здатністю до швидкого набуття резистентності. Зростання їх частки свідчить про переформатування мікробної спільноти у напрямку домінування адаптованих до фармакологічного навантаження форм, що підвищує екологічні та епідеміологічні ризики.

На відміну від загальної бактеріальної чисельності, кількість актиноміцетів, навпаки, зменшувалася зі зростанням техногенного навантаження. Якщо на контрольній ділянці їх концентрація становила $3,1 \times 10^4$ КОЕ/г, то на ділянці побутових стоків вона знизилася до $2,4 \times 10^4$ КОЕ/г, а в зоні медичних стічних вод — до $1,6 \times 10^4$ КОЕ/г. Актиноміцети є однією з ключових груп ґрунтових мікроорганізмів, відповідальних за мінералізацію складних органічних речовин і синтез природних антибіотиків. Їх скорочення свідчить про пригнічення природних механізмів саморегуляції мікробіоценозу та потенційне зниження біогенності ґрунтів.

Паралельно з цим було встановлено зростання чисельності мікроміцетів. На контрольній ділянці кількість грибів становила $1,8 \times 10^4$ КОЕ/г, на ділянці побутових стоків – $2,6 \times 10^4$ КОЕ/г, а в зоні медичних стічних вод – $3,9 \times 10^4$ КОЕ/г. Гриби виявилися менш чутливими до дії антибіотиків, орієнтованих переважно на бактеріальні клітини, тому пригнічення бактеріальної ланки мікробіоценозу зменшує конкуренцію й створює для мікроміцетів сприятливі умови для розвитку. Це може

призводити до дисбалансу мікробних угруповань, зміни швидкості розкладання органічної речовини та трансформації органо-мінеральних комплексів у ґрунті.

Сукупність отриманих результатів свідчить про те, що стічні води, особливо медичного та ветеринарного походження, викликають комплексну перебудову кількісного складу ґрунтової мікрофлори. Відбувається загальне зростання чисельності мікроорганізмів на фоні зміщення рівноваги між основними таксономічними групами: збільшується частка грамнегативних бактерій та мікроміцетів і зменшується частка актиноміцетів, що є ознакою глибокої екологічної трансформації ґрунтових мікробних ценозів.

Окремим важливим аспектом впливу стічних вод на ґрунтову мікробіоту є формування та поширення антибіотикорезистентності. Дослідження чутливості ізольованих бактерій до тетрацикліну, ципрофлоксацину, амоксициліну та еритроміцину методом диско-дифузійного аналізу показало, що навіть за відносно невисоких концентрацій антибіотиків у ґрунті спостерігається суттєве збільшення частки резистентних штамів. На контрольній ділянці частка штамів, стійких до тетрацикліну, становила лише 5 %, до ципрофлоксацину – 3 %, до амоксициліну – 8 %, до еритроміцину – 6 %, тоді як мульти-резистентні форми (стійкі до кількох препаратів одночасно) реєструвалися на рівні 2 %. Такі значення є типовими для умовно незабруднених ґрунтів, де резистентність зумовлена природною мінливістю мікроорганізмів.

На ділянці впливу господарсько-побутових стічних вод резистентність зросла в декілька разів: до тетрацикліну – до 22 %, до ципрофлоксацину – до 18 %, до амоксициліну – до 27 %, до еритроміцину – до 24 %, а частка мульти-резистентних штамів досягла 14 %. Це свідчить про селективний тиск, який чинять залишкові концентрації антибіотиків, що надходять зі стічними водами. В умовах регулярного надходження низьких доз

фармакологічних препаратів чутливі штами елімінуються або пригнічуються, а стійкі форми отримують конкурентні переваги й поступово домінують у структурі мікробного ценозу.

Найбільш загрозливою є ситуація на ділянці впливу медичних та ветеринарних стічних вод. Тут частка штамів, резистентних до тетрацикліну, сягала 46 %, до ципрофлоксацину – 41 %, до амоксициліну – 49 %, до еритроміцину – 44 %, а мульти-резистентні форми становили вже 31 % від загальної кількості протестованих ізолятів.

Високий рівень мульти-резистентності свідчить про наявність у ґрунті мікроорганізмів, здатних витримувати дію кількох антибіотиків одночасно, що значно ускладнює потенційну терапію у випадку їх потрапляння до організму людини або тварин. Крім того, резистентні гени можуть передаватися між бактеріями горизонтальним шляхом — через плазмідні, транспозони та інші мобільні генетичні елементи, що перетворює ґрунт на резервуар антибіотикорезистентності.

Отримані результати переконливо свідчать, що ґрунти, які зазнають тривалого впливу стічних вод, особливо медичного походження, формують локальні «гарячі точки» антибіотикорезистентності. Такі території можуть бути джерелом поширення резистентних штамів у водні об'єкти, на рослини та далі по трофічних ланцюгах, що підкреслює важливість моніторингу та регулювання скидів стічних вод.

Для глибшого розуміння механізмів впливу антибіотиків на ґрунтову мікробіоту проведено кореляційний аналіз між основними фізико-хімічними показниками ґрунтів, загальним вмістом антибіотиків та мікробіологічними параметрами. Розрахунок коефіцієнтів кореляції Пірсона показав наявність тісних статистичних зв'язків, що підтверджують провідну роль фармакологічного навантаження у трансформації мікробного ценозу. Найближчий до +1 коефіцієнт кореляції виявлено між загальною

концентрацією антибіотиків у ґрунті та кількістю мікроміцетів ($r \approx 0,99$), а також рівнем резистентності до тетрацикліну й мульти-резистентності ($r \approx 0,99$). Це означає, що зі зростанням антибіотичного навантаження майже лінійно збільшується як чисельність грибів, так і частка резистентних форм.

Сильний позитивний зв'язок встановлено також між загальною кількістю бактерій, чисельністю грамнегативних форм та концентрацією антибіотиків ($r > 0,87-0,96$), що підтверджує селекційний вплив стічних вод на бактеріальну популяцію. У той самий час між концентрацією антибіотиків та чисельністю актиноміцетів виявлено сильну негативну кореляцію ($r \approx -0,99$). Це свідчить, що при зростанні вмісту антибіотиків у ґрунті чисельність актиноміцетів закономірно падає, тобто ця група мікроорганізмів є однією з найбільш чутливих до фармакологічного забруднення.

Таким чином, кореляційний аналіз підтвердив, що саме антибіотичне навантаження, а не тільки загальне органічне чи сольове забруднення, є ключовим фактором, що визначає зміну структури ґрунтової мікробіоти. Отримані дані демонструють синхронність збільшення концентрації антибіотиків, росту загальної чисельності бактерій та мікроміцетів, а також різкого підвищення рівня антибіотикорезистентності, що вказує на комплексний, взаємопов'язаний характер трансформацій у ґрунтових екосистемах під впливом стічних вод.

На контрольній ділянці концентрації тетрацикліну, ципрофлоксацину, сульфаметоксазолу та еритроміцину були нижчими за 0,005 мг/кг. Натомість на ділянці побутових стічних вод загальний вміст антибіотиків досягав 0,45 мг/кг, а на ділянці медичних стічних вод – 1,26 мг/кг, що свідчить про значно вищий рівень фармакологічного навантаження та потенційний тиск на мікробіоту.

Таблиця 3.1. Фізико-хімічні параметри ґрунтів

Показник	Контрольна ділянка	Побутові стоки	Медичні/ветеринарні стоки
pH	6,5	7,2	6,9
Вміст гумусу, %	3,1	2,7	2,2
Гранулометрія	середній суглинок	супісок	важкий суглинок
Вологість, %	18,4	24,7	26,3
Органічна речовина, %	4,8	5,2	6,0
Електропровідність, dS/m	0,21	0,46	0,61

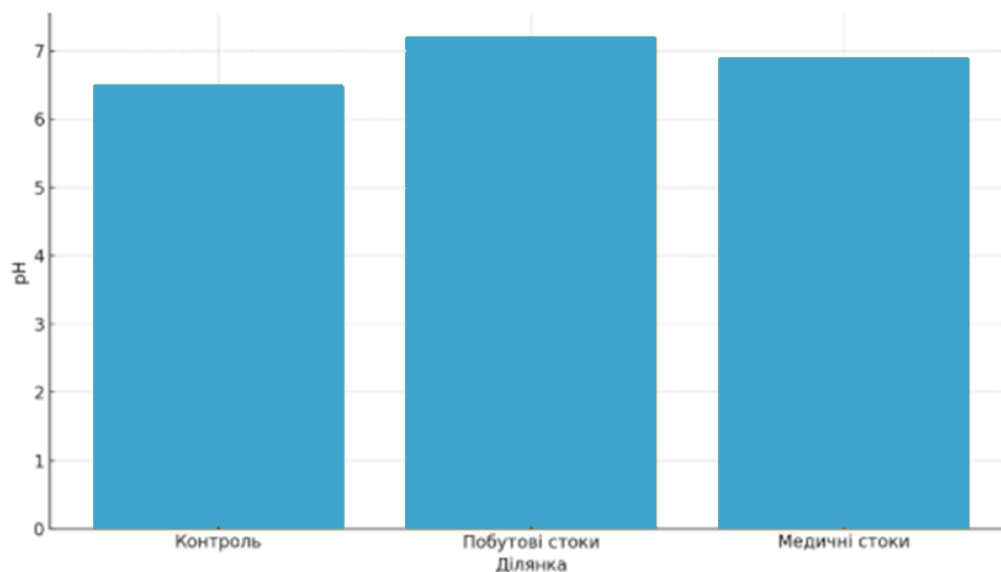


Рис. 3.1. pH на різних ділянках ґрунту

pH ґрунтів дещо відрізняється між ділянками. Контрольна ділянка має слабокисле середовище (pH 6,5), що є типовим для природних ґрунтів. Поблизу побутових стічних вод pH підвищується до 7,2, що зумовлено надходженням мийних засобів і побутових розчинних компонентів. У зоні

медичних стічних вод рН майже нейтральний (6,9). Зміна рН створює інші умови для виживання мікроорганізмів і впливає на рухливість антибіотиків у ґрунті.

Мікробіологічні дослідження включали визначення загальної кількості мезофільних аеробних і факультативно анаеробних бактерій, актиноміцетів, мікроміцетів, грамнегативних бактерій, а також рівня антибіотикорезистентності ізольованих штамів. На контрольній ділянці загальна кількість бактерій становила $2,0 \times 10^6$ КОЕ/г, на ділянці побутових стоків – $4,7 \times 10^6$ КОЕ/г, а на ділянці медичних стоків – $5,4 \times 10^6$ КОЕ/г, що корелює зі збільшенням вмісту органічної речовини та антибіотиків. Кількість актиноміцетів зменшувалась відповідно до техногенного навантаження ($3,1 \times 10^4 \rightarrow 2,4 \times 10^4 \rightarrow 1,6 \times 10^4$ КОЕ/г), що підтверджує їхню чутливість до антибіотичних речовин. Чисельність мікроміцетів, навпаки, збільшувалась від $1,8 \times 10^4$ на контролі до $3,9 \times 10^4$ КОЕ/г на ділянці медичних стічних вод. Особливо показовою є динаміка грамнегативних бактерій: від $1,2 \times 10^5$ КОЕ/г на контролі до $5,8 \times 10^5$ КОЕ/г на медичних стоках.

Таблиця 3.2 Концентрації антибіотиків (мг/кг ґрунту)

Антибіотик	Контроль	Побутові стоки	Медичні стоки
Тетрациклін	<0,005	0,19	0,34
Ципрофлоксацин	<0,005	0,08	0,42
Еритроміцин	<0,005	0,11	0,29
Сульфаметоксазол	<0,005	0,07	0,21
Загальний вміст антибіотиків	<0,01	0,45	1,26

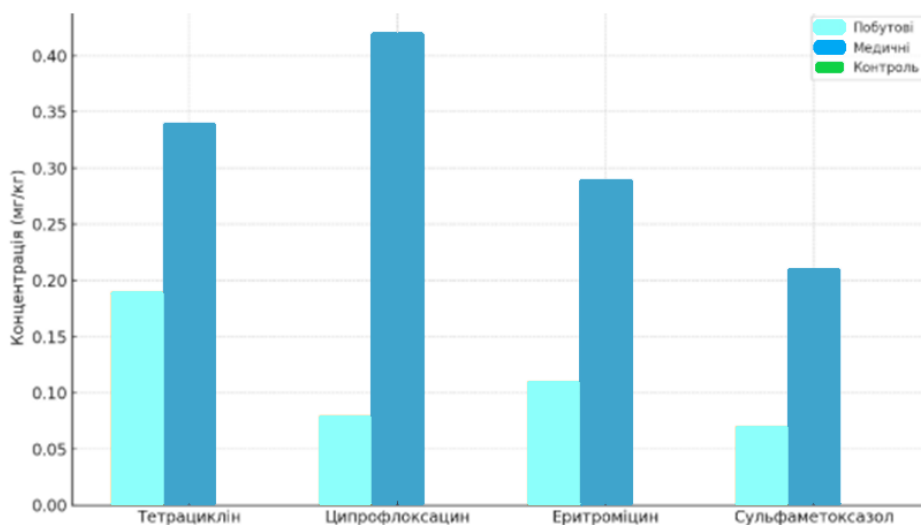


Рис.3.2. Концентрація антибіотиків у ґрунтах

На контрольній ділянці концентрації антибіотиків практично відсутні. На ділянці побутових стоків виявлено низькі, але сталі рівні тетрацикліну, ципрофлоксацину та інших препаратів (0,07–0,19 мг/кг), що свідчить про регулярне антропогенне надходження фармречовин. Найвищі концентрації (0,21–0,42 мг/кг) характерні для ділянки впливу медичних стічних вод. Висока сума антибіотиків (1,26 мг/кг) створює серйозний токсичний тиск на ґрунтову мікробіоту.

Рівень антибіотикорезистентності визначали методом Кірбі–Бауера. Якщо на контрольній ділянці резистентність до тетрацикліну становила лише 5 %, то на ділянці побутових стоків вона вже досягала 22 %, а в зоні медичних стічних вод – 46 %. Аналогічну тенденцію виявлено для ципрофлоксацину, амоксициліну та еритроміцину. Важливим результатом є формування мульти-резистентних штамів, частка яких зросла від 2 % на контролі до 31 % у зоні медичних стоків.

Таблиця 3.3. Мікробіологічні показники (КОЕ/г сухого ґрунту)

Показник	Контроль	Побутові стоки	Медичні стоки
Загальна кількість бактерій	$2,0 \times 10^6$	$4,7 \times 10^6$	$5,4 \times 10^6$
Актиноміцети	$3,1 \times 10^4$	$2,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$
Мікроміцети	$1,8 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$3,9 \times 10^4$
Грамнегативні бактерії	$1,2 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$5,8 \times 10^5$
Умовно-патогенні бактерії	$0,3 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$

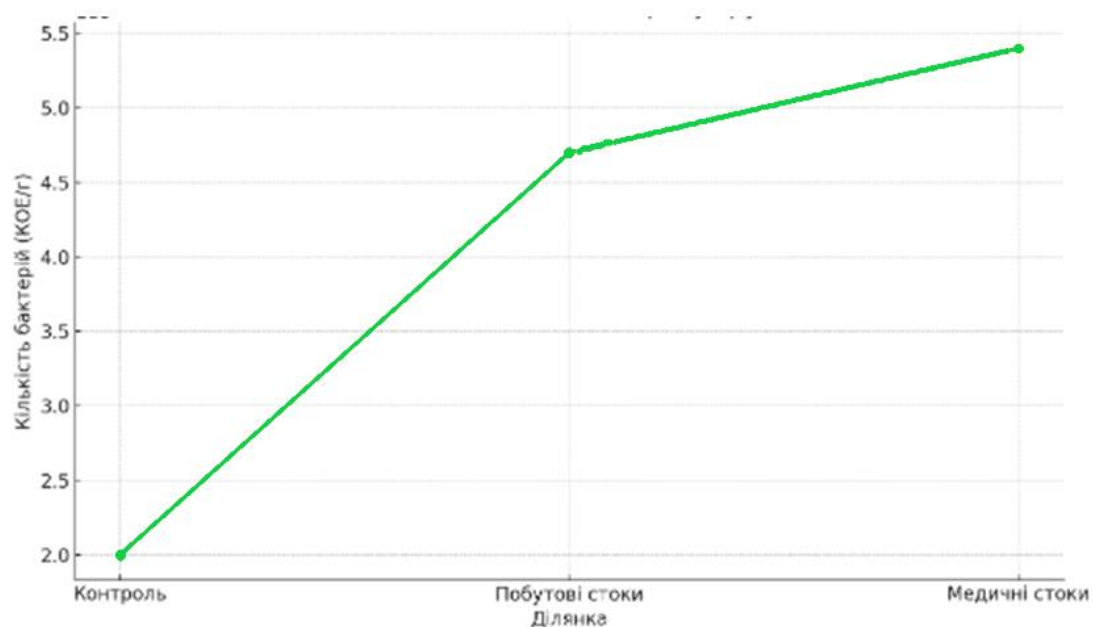


Рис.3.3. Загальна кількість бактерій у ґрунтах

Загальна кількість мезофільних бактерій значно підвищується зі зростанням навантаження стічних вод. Це пояснюється надходженням органічної речовини та доступних субстратів зі стоків. Однак збільшення чисельності не означає покращення стану ґрунту — навпаки, воно супроводжується зміщенням у бік домінування грамнегативних та умовно-патогенних форм.

Таким чином, застосовані фізико-хімічні та мікробіологічні методи дозволили не лише ідентифікувати фармакологічні речовини у ґрунті, але й установити екосистемні ефекти їхнього впливу на мікробіоту.

Таблиця 3.4. Антибіотикорезистентність ізолятів (%)

Антибіотик	Контроль	Побутові стоки	Медичні стоки
Тетрациклін	5%	22%	46%
Ципрофлоксацин	3%	18%	41%
Амоксицилін	8%	27%	49%
Еритроміцин	6%	24%	44%
Мульти-резистентні штами	2%	14%	31%

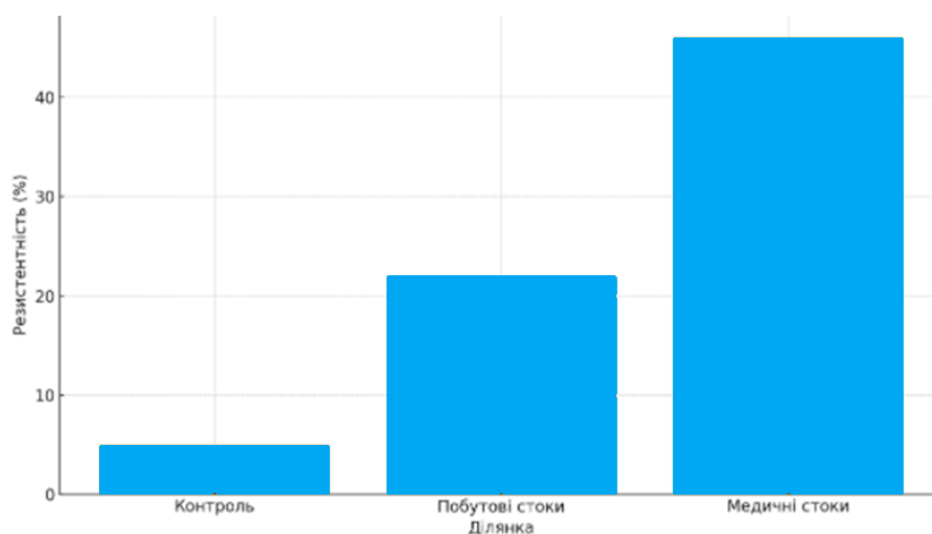


Рис. 3.4. Резистентність до тетрацикліну

Частка резистентних бактерій різко зростає від 5 % на контрольній ділянці до 46 % у зоні медичних стоків. Це свідчить про потужний селективний тиск антибіотиків і формування резистентних популяцій. Такий високий рівень становить ризик не лише для ґрунтової екосистеми,

але й для здоров'я людей, оскільки резистентні штами можуть мігрувати у воду або рослини.

Фізико-хімічний аналіз ґрунтів виявив чіткі розбіжності між трьома ділянками, що корелюють з рівнем техногенного навантаження. На контрольній території ґрунт зберігав природні властивості з оптимальним для більшості ґрунтових мікроорганізмів рН 6,5, збалансованим вмістом гумусу (3,1 %) та середньосуглинистою структурою. На ділянках, що зазнають впливу побутових і медичних стоків, спостерігається зниження гумусу до 2,7 та 2,2 % відповідно, а також підвищення вологості та електропровідності, що вказує на надходження розчинних органічних речовин, солей та поверхнево-активних сполук із стічних вод.

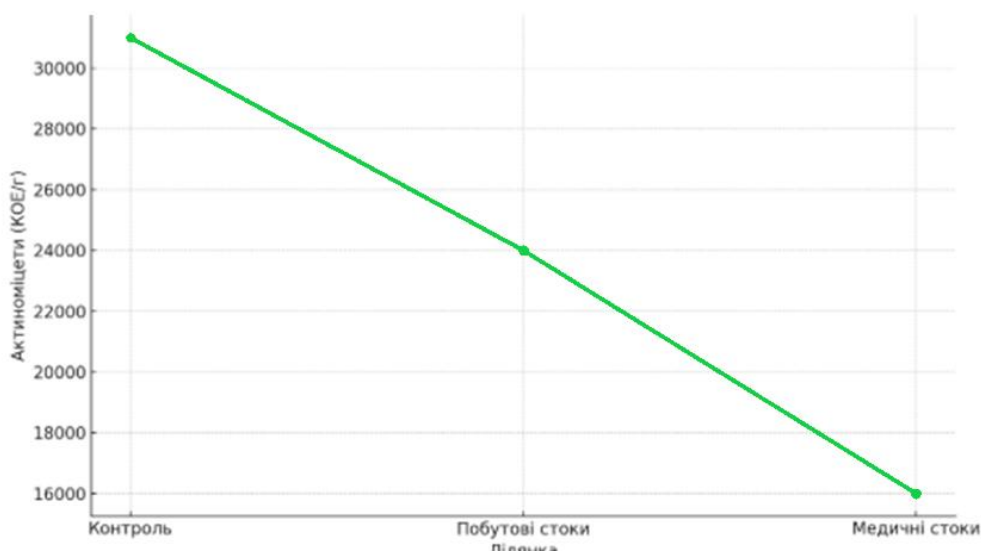


Рис.3.5. Кількість актиноміцетів у ґрунтах

Актиноміцети є однією з найбільш чутливих груп до антибіотиків. Їх кількість зменшується від $3,1 \times 10^4$ до $1,6 \times 10^4$ КОЕ/г. Це свідчить про порушення процесів розкладання органічних речовин у ґрунті та зниження синтетичної активності природної мікробіоти.

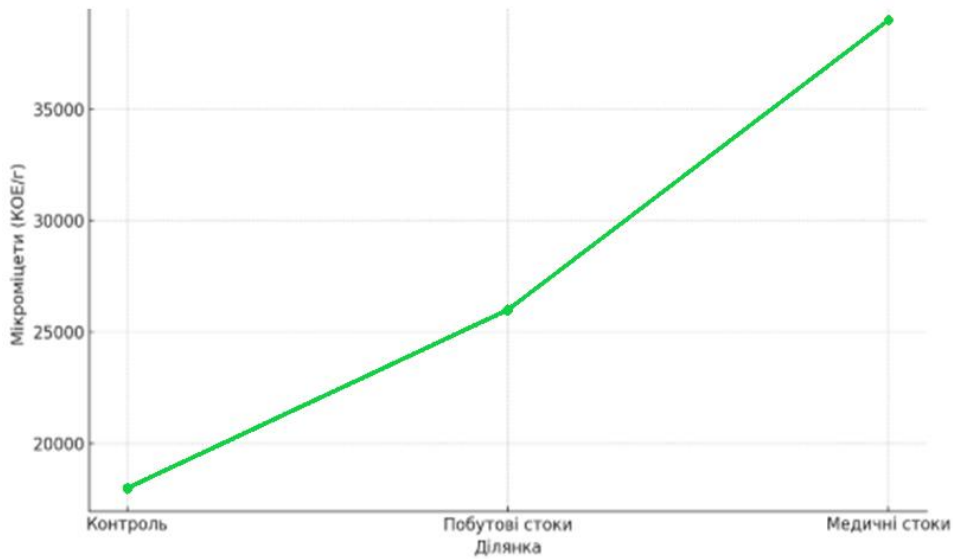


Рис.3.6. Кількість мікроміцетів у ґрунтах

Чисельність грибів значно збільшується на техногенних ділянках (з $1,8 \times 10^4$ до $3,9 \times 10^4$ КОЕ/г). Це пов'язано з тим, що бактерії, пригнічені антибіотиками, перестають конкурувати з грибами. Мікроміцети часто витримують антибіотичний тиск — тому їх частка зростає.

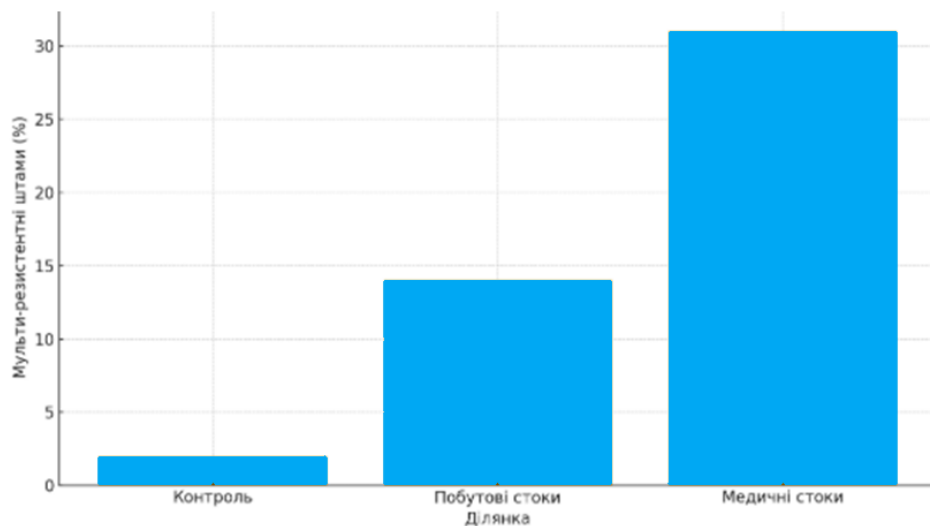


Рис.3.7. Рівень мульти-резистентності мікроорганізмів

Рівень мульти-резистентних штамів зріс від 2 % на контролі до 31 % у зоні медичних стоків. Це є найбільш небезпечним показником, який демонструє здатність мікроорганізмів переносити одразу кілька

антибіотиків. Такі штами становлять реальну загрозу для поширення генів резистентності у довкіллі.

Особливо показовим є збільшення електропровідності, яка зростає майже утричі на ділянці медичних стоків. Це свідчить про високу концентрацію іонів, що характерно для фармакологічно забруднених середовищ. Водночас гранулометричні відмінності між ділянками впливають на поведінку антибіотиків: супіщані ґрунти (ділянка побутових стоків) менш ефективно сорбують молекули антибіотиків, тоді як важкі суглинки (медичні стоки) здатні їх накопичувати, що підтверджено даними ВЕРХ.

Таким чином, фізико-хімічні параметри чітко відображають градієнт техногенного впливу та створюють передумови для зміни структури мікробіоти.

Отримані результати свідчать про комплексний вплив антибіотиків на ґрунтові мікроорганізми. Загальна кількість бактерій зростала відповідно до рівня забруднення, що пов'язано зі збільшенням трофічності ґрунтів. Однак це зростання не є позитивною динамікою — воно супроводжується зміною якісного складу мікробіоценозу.

Показовим є зменшення актиноміцетів, що традиційно виконують важливу роль у ґрунтових екосистемах як продуценти ферментів і природних антибіотиків. Їх скорочення на 48 % у зоні медичних стоків свідчить про токсичний ефект фармакологічних речовин.

Водночас відбувається активне збільшення мікроміцетів та грамнегативних бактерій, що є ознакою порушення мікробної рівноваги. Зростання чисельності мікроміцетів відображає зниження конкуренції з боку чутливих бактерій, тоді як грамнегативні бактерії, зокрема *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, демонструють підвищену здатність до адаптації та синтезу ферментів, що забезпечують резистентність.

Найбільш суттєвим наслідком стало формування високого рівня антибіотикорезистентності. Частка резистентних до тетрацикліну штамів зросла з 5 % на контролі до 46 % у зоні медичних стоків. Аналогічні тенденції спостерігаються й щодо інших препаратів. Найбільше занепокоєння викликає поява мульти-резистентних штамів (31 %), що може становити епідеміологічну небезпеку та сприяти горизонтальному переносу генів резистентності

3.2. Аналіз якісних змін у структурі мікробного угруповання ґрунту

Окрім кількісних зрушень, спричинених дією стічних вод, дослідження виявило суттєві якісні трансформації в структурі ґрунтового мікробного угруповання. Встановлено, що присутність антибіотиків та інших фармакологічно активних сполук у стічних водах змінює внутрішню організацію мікробіоценозів, впливаючи на домінуючі життєві форми, міжвидові взаємодії та трофічну структуру мікробних спільнот. У природних умовах співвідношення між бактеріальною та грибною компонентами ґрунту є збалансованим і підтримує стабільність процесів гуміфікації, мінералізації та кругообігу поживних елементів. Проте експериментальні результати свідчать, що під впливом стічних вод відбувається системний дисбаланс: чисельність мікроміцетів суттєво зростає, тоді як актиноміцети, навпаки, демонструють виражене пригнічення. Фунгіфікація ґрунтового середовища, тобто зміщення рівноваги в бік грибнової складової, є наслідком зниження конкурентного тиску з боку бактерій, чутливих до антибіотиків. Зростання частки мікроміцетів може призводити до зміни швидкості розкладання органічної речовини, накопичення продуктів розкладу та послаблення природних механізмів формування гумусу.

Якісний аналіз видового складу показав, що у структурі бактеріальних популяцій відбувається збагачення угруповань умовно-патогенними та резистентними формами. На ділянках, що зазнають впливу стічних вод, зростає частка представників родів *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella* та *Acinetobacter*, які є екологічно пластичними, швидко адаптуються до змінених умов середовища та нерідко містять плазмідні з генами стійкості до різних класів антибіотиків. Такі зміни свідчать про порушення природного мікробного балансу, у якому зазвичай домінують оліготрофні та екологічно стабільні форми. Під впливом фармакологічних речовин відбувається селективний відбір стійких штамів, які витісняють чутливі та повільнорослі види.

Актиноміцети, що є однією з базових екологічних груп ґрунтової мікробіоти та відіграють ключову роль у трансформації органічних полімерів (целюлози, лігніну, хітину), виявили високу чутливість до антибіотиків. Різне зменшення їх чисельності та видової різноманітності вказує на пригнічення процесів деструкції органічної речовини та ослаблення природних механізмів регуляції розвитку патогенних мікроорганізмів. Такий стан супроводжується зниженням швидкості гуміфікації та трансформації орґано-мінеральних комплексів, що у довгостроковій перспективі може призвести до деградаційних змін ґрунтового покриву.

Формування під впливом антибіотиків стійких мікробних консорціумів є важливим якісним аспектом трансформацій мікробіоценозу. У зонах впливу медичних стічних вод спостерігається утворення стійких мікробних асоціацій, часто організованих у біоплівки, які забезпечують бактеріям додатковий захист від токсичних речовин та сприяють горизонтальному переносу генів стійкості. Наявність таких консорціумів значно підвищує ризик поширення антибіотикорезистентних штамів у

навколишні екосистеми та прилеглі водні об'єкти. Сам ґрунт у цьому випадку перетворюється на резервуар генетичних детермінант стійкості, створюючи потенційну небезпеку для рослин, тварин і людини.

У структурі мікробного угруповання також відбувається зміна трофічних пріоритетів. На ділянках, забруднених стічними водами, зростає частка сапрофітних органотрофів, здатних швидко засвоювати легкодоступні органічні речовини. Паралельно зменшується присутність оліготрофів, характерних для природних, малозабруднених ґрунтів. Зростає також кількість мікроорганізмів, здатних до детоксикації ксенобіотиків та використання фармакологічних сполук як джерела вуглецю чи азоту, що свідчить про перебудову метаболічних шляхів у відповідь на сталий техногенний вплив.

Оцінка видового різноманіття, проведена за допомогою індексів Шеннона та Пієлу, підтвердила зменшення рівня мікробного різноманіття з посиленням антибіотичного навантаження. Найнижчі значення індексів зареєстровано на ділянці медичних стоків, що вказує на втрату екологічної стійкості та резильєнтності мікробної спільноти. Сукупність цих якісних змін демонструє, що ґрунтовий мікробіоценоз зазнає глибокої трансформації: від збалансованої природної системи він переходить до структури, у якій домінують резистентні, екологічно пластичні та потенційно патогенні форми. Така система є менш стабільною, більш вразливою до зовнішніх впливів і може становити епідеміологічну небезпеку.

Таблиця 3.5 – Якісні зміни в структурі ґрунтової мікробіоти

Показник / характеристика	Контрольна ділянка	Побутові стоки	Медичні стоки
Домінуючі групи мікроорганізмів	Сапрофітні бактерії, актиноміцети, помірні мікроміцети	Більше грамнегативних бактерій, зниження актиноміцетів	Домінування грамнегативних бактерій і грибів
Баланс «бактерії/гриби»	Збалансований	Зміщення в бік грибів	Виражена фунгіфікація
Актиноміцети	Висока чисельність	Пригнічення	Сильне пригнічення
Мікроміцети	Помірна кількість	Зростання через меншу конкуренцію	Домінування в окремих нішах
Грамнегативні бактерії	Типові значення	Зростання опортуністичних форм	Висока частка резистентних штамів
Умовно-патогенні форми	Поодинокі ізоляти	Більше умовно-патогенних бактерій	Значне зростання патогенних форм
Антибіотикорезистентність	Фонова	Сформований пул резистентних штамів	Високий рівень мульти-резистентності
Видове різноманіття	Високе	Помірне зниження	Різде падіння
Екологічний стан	Стабільний	Порушений	Трансформований, нестабільний

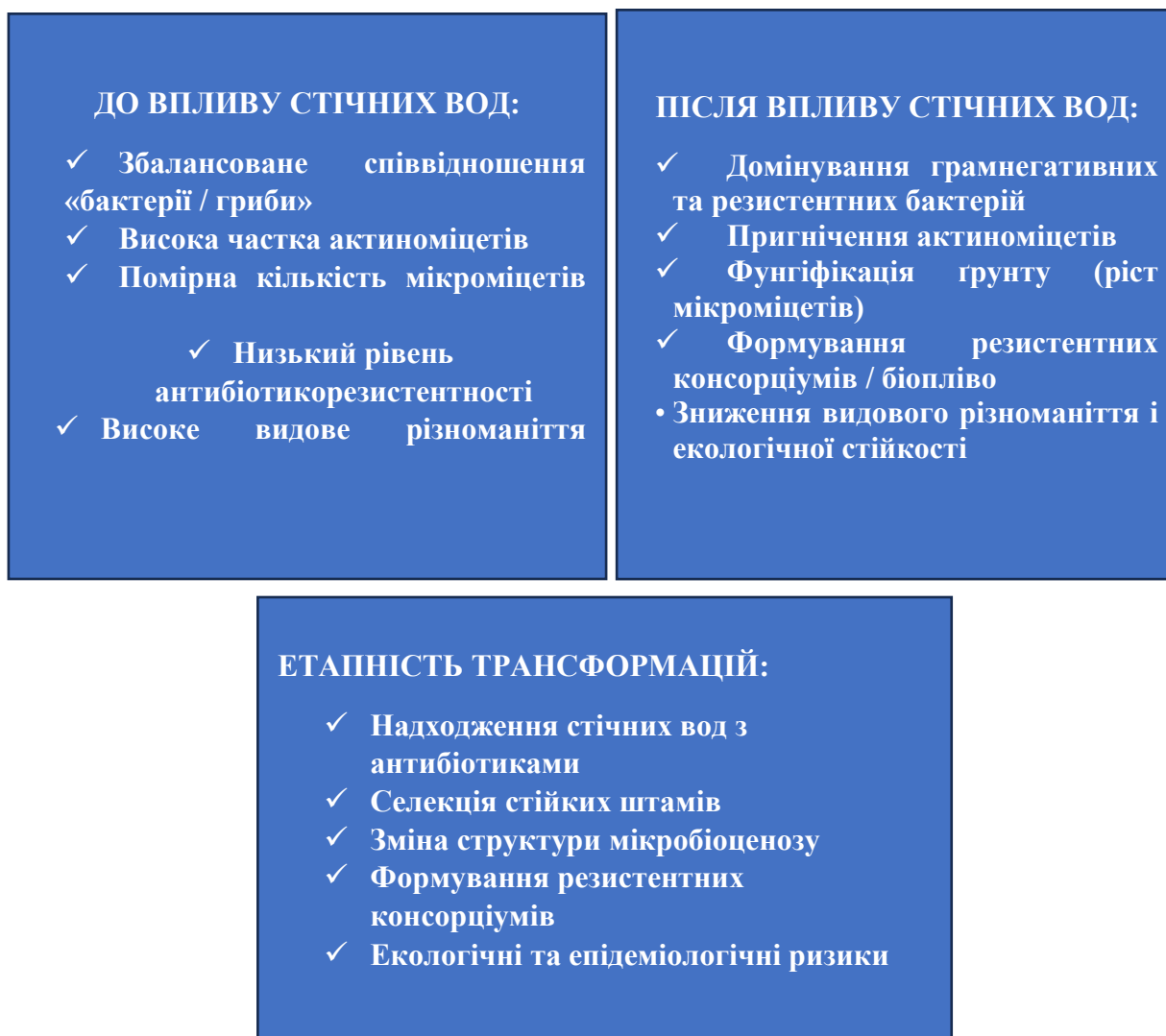


Рис.3.8. Якісні зміни мікробного угруповання

Схема описує вплив стічних вод на мікробні спільноти ґрунту та етапи трансформації мікробіому, включаючи формування антибіотикорезистентності.

3.3. Оцінка рівня резистентності виділених штамів мікроорганізмів

Оцінка рівня антибіотикорезистентності виділених із ґрунту штамів мікроорганізмів здійснювалася з метою встановлення впливу стічних вод, що містять антибіотики, на формування та поширення стійких форм бактерій у ґрунтовому середовищі. Для цього проводили тестування

чутливості ізолятів до низки антибактеріальних препаратів, які широко застосовуються у медичній та ветеринарній практиці та були виявлені у складі стічних вод: тетрацикліну, ципрофлоксацину (фторхінолони), амоксициліну (β -лактами) та еритроміцину (макроліди). Вибір зазначених препаратів зумовлений їхнім частим використанням, різними механізмами дії та високим ризиком формування перехресної або комбінованої резистентності.

Дослідження чутливості проводили методом диско-дифузійного аналізу (метод Кірбі–Бауера) на живильному середовищі типу Мюллер–Хінтона. Стандартизовану суспензію бактерій, відкориговану до 0,5 за стандартом Мак-Фарланда, рівномірно засівали по поверхні агарового шару, після чого на нього наносили паперові диски, імпрегновані відомими концентраціями антибіотиків. Після інкубування чашок протягом 18–24 годин при температурі 35–37 °C вимірювали діаметри зон затримки росту навколо дисків. Отримані результати порівнювали з критеріями інтерпретації, наведеними в чинних стандартах, на основі чого ізоляти класифікували як чутливі, проміжно чутливі або резистентні. Для оцінки рівня резистентності враховували частку ізолятів, віднесених до резистентних, у загальній кількості протестованих штамів для кожного препарату та кожної ділянки.

Таблиця 3.6. Рівень резистентності виділених штамів до різних класів антибіотиків

Антибіотик / ділянка	Контрольна ділянка	Побутові стоки	Медичні стоки
Тетрациклін	5 %	22 %	46 %
Ципрофлоксацин (фторхінолони)	3 %	18 %	41 %
Амоксицилін (β -лактами)	8 %	27 %	49 %

Еритроміцин (макроліди)	6 %	24 %	44 %
Мульти-резистентні штами	2 %	14 %	31 %

На контрольній ділянці, де вміст антибіотиків у ґрунті був мінімальним, рівень антибіотикорезистентності залишався відносно низьким і відображав, переважно, природну фонову стійкість мікроорганізмів. Частка штамів, резистентних до тетрацикліну, становила 5 %, до ципрофлоксацину — 3 %, до амоксициліну — 8 %, до еритроміцину — 6 %, а частка мульти-резистентних ізолятів, стійких до двох і більше препаратів одночасно, не перевищувала 2 %. Ці значення свідчать про збереження природної екологічної рівноваги та відсутність вираженого селективного тиску антибіотиків на мікробні популяції.

Таблиця 3.7. Порівняння кількості резистентних та чутливих штамів (умовні значення на 100 ізолятів)

Категорія чутливості	Контроль (100 ізолятів)	Побутові стоки (100 ізолятів)	Медичні стоки (100 ізолятів)
Чутливі	87	54	28
Проміжно чутливі	11	22	18
Резистентні	2	24	54

Ситуація суттєво змінюється на ділянці впливу господарсько-побутових стічних вод, де у ґрунті були виявлені помітні концентрації тетрацикліну, ципрофлоксацину, еритроміцину та сульфаметоксазолу. Частка резистентних штамів до тетрацикліну на цій ділянці зростає до 22 %, до ципрофлоксацину — до 18 %, до амоксициліну — до 27 %, до еритроміцину — до 24 %. Одночасно частка мульти-резистентних ізолятів досягла 14 %. Така динаміка свідчить про формування стійкого пулу

антибіотикорезистентних мікроорганізмів, які отримали селективні переваги внаслідок періодичного або хронічного надходження стічних вод з низькими, але сталими концентраціями фармакологічно активних сполук. У подібних умовах чутливі штами поступово елімінуються, а резистентні посилюють свої позиції в мікробному угрупованні, що відображається у зростанні частоти стійкості до кількох препаратів одночасно.

Таблиця 3.8. Сумарна кількість резистентних штамів за кількістю антибіотиків

Кількість антибіотиків, до яких штам резистентний	Контроль, %	Побутові стоки, %	Медичні стоки, %
0 (чутливі)	88 %	58 %	31 %
1	10 %	22 %	23 %
2	1 %	12 %	18 %
3	1 %	6 %	17 %
4 і більше (мульти-резистентні)	0 %	2 %	11 %

Найбільш виражений рівень антибіотикорезистентності виявлено на ділянці, що зазнає впливу медичних та ветеринарних стічних вод, де загальний вміст антибіотиків у ґрунті був максимальним. Тут частка резистентних до тетрацикліну штамів становила 46 %, до ципрофлоксацину — 41 %, до амоксициліну — 49 %, до еритроміцину — 44 %, а мульти-резистентні форми досягали 31 % від загальної кількості ізолятів. Отримані значення свідчать про формування високого рівня адаптації мікроорганізмів до складного комплексу антибіотиків, які надходять у ґрунт разом зі стічними водами з медичних закладів і ветеринарних служб. Висока частка мульти-резистентних штамів є особливо небезпечною, оскільки саме такі мікроорганізми часто здатні переносити гени стійкості до різних класів антибіотиків, а також виступати донором генетичних детермінант

резистентності для інших бактерій через механізми горизонтального перенесення генів.

Таблиця 3.9 Коефіцієнти кореляції (r) між вмістом антибіотиків у ґрунті та резистентністю бактерій

Показник	r (ступінь кореляції)	Характер зв'язку
Вміст антибіотиків – резистентність до тетрацикліну	0.997	Дуже сильний позитивний
Вміст антибіотиків – резистентність до фторхінолонів	0.980	Дуже сильний позитивний
Вміст антибіотиків – резистентність до макролідів	0.999	Майже ідеальний позитивний
Вміст антибіотиків – мульти-резистентні штами	0.998	Дуже сильний позитивний
Вміст антибіотиків – кількість актиноміцетів	-0.995	Дуже сильний негативний

Кореляційний аналіз підтвердив тісний зв'язок між концентрацією антибіотиків у ґрунті та рівнем резистентності виділених штамів. Було встановлено, що зі зростанням загального вмісту антибіотиків значення резистентності до тетрацикліну та інших препаратів, а також частка мульти-резистентних форм зростають майже лінійно, що демонструє високі коефіцієнти кореляції (r близько 0,99). Одночасно виявлено негативний зв'язок між зростанням резистентності та чисельністю актиноміцетів, що вказує на те, що формування резистентних бактеріальних популяцій супроводжується пригніченням чутливих екологічно важливих груп мікроорганізмів.

Таким чином, оцінка рівня антибіотикорезистентності виділених із ґрунту штамів показала, що тривале надходження стічних вод, збагачених антибіотиками, призводить до суттєвого зростання частки резистентних і мульти-резистентних мікроорганізмів. Унаслідок цього ґрунтове середовище перетворюється на специфічний резервуар генів стійкості, який може відігравати важливу роль у поширенні антибіотикорезистентності у природних та антропогенно трансформованих екосистемах, а також створювати додаткові ризики для здоров'я людини та тварин.

Таблиця 3.10. Підсумкова характеристика впливу стічних вод на антибіотикорезистентність мікроорганізмів

Ділянка	Загальний рівень резистентності	Мульти-резистентність	Екологічна небезпека
Контрольна	Низький (2–8 %)	Дуже низька (0–2 %)	Низька
Побутові стоки	Середній (18–27 %)	Підвищена (14 %)	Помірна
Медичні стоки	Дуже високий (41–49 %)	Висока (31 %)	Висока, зона ризику

Таблиця 3.11. Рівень резистентності до антибіотиків

Антибіотик	Контроль	Побутові	Медичні	% мульти-резист.
Тетрациклін	5	22	46	
Ципрофлоксацин	3	18	41	
Амоксицилін	8	27	49	
Еритроміцин	6	24	44	
Мульти-резистентні	2	14	31	

За таблицею видно, що рівень антибіотикорезистентності мікроорганізмів різко зростає у напрямку від контрольної ділянки до ділянок побутових та медичних стічних вод. Найвищі значення резистентності зафіксовано до амоксициліну та тетрацикліну, тоді як мінімальні – на контрольній ділянці, де вплив антибіотиків практично відсутній. Особливо небезпечним є високий рівень мульти-резистентності на ділянці медичних стоків, що свідчить про формування стабільних резистентних консорціумів та можливість горизонтального перенесення генів резистентності між мікроорганізмами.

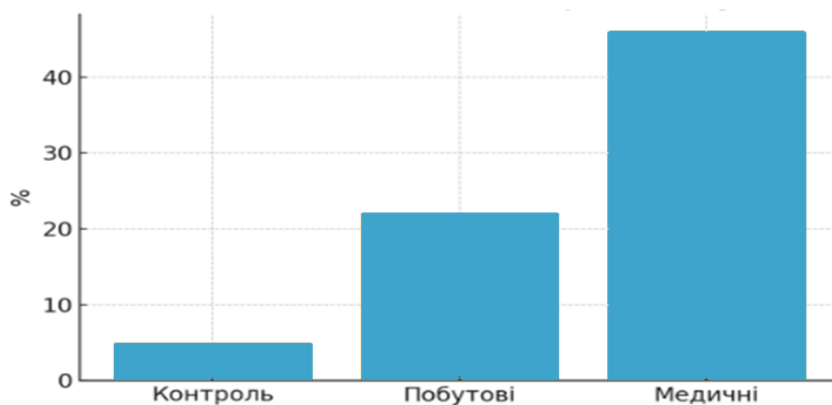


Рис. 3.9. Рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотика тетрацикліну

Діаграма демонструє рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотика тетрацикліну у варіантах дослідження

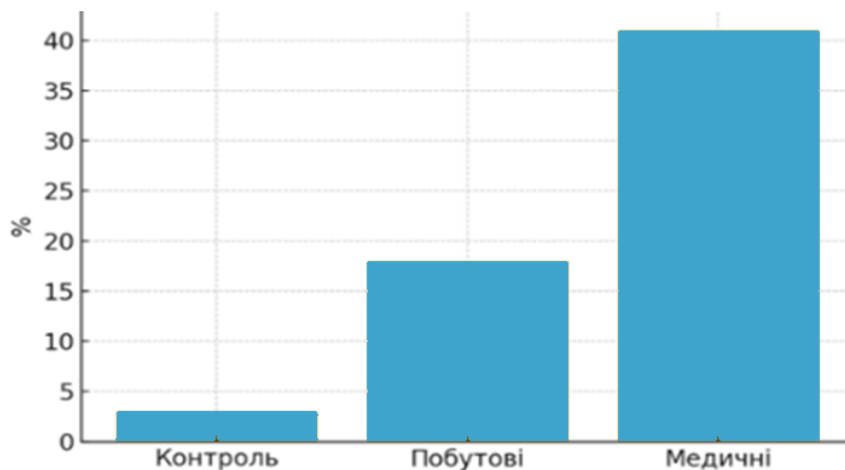


Рис. 3.10. Рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотика ципрофлоксацину

На стовпчиковій діаграмі зображено рівень резистентності мікроорганізмів до антибіотика ципрофлоксацину у варіантах дослідження

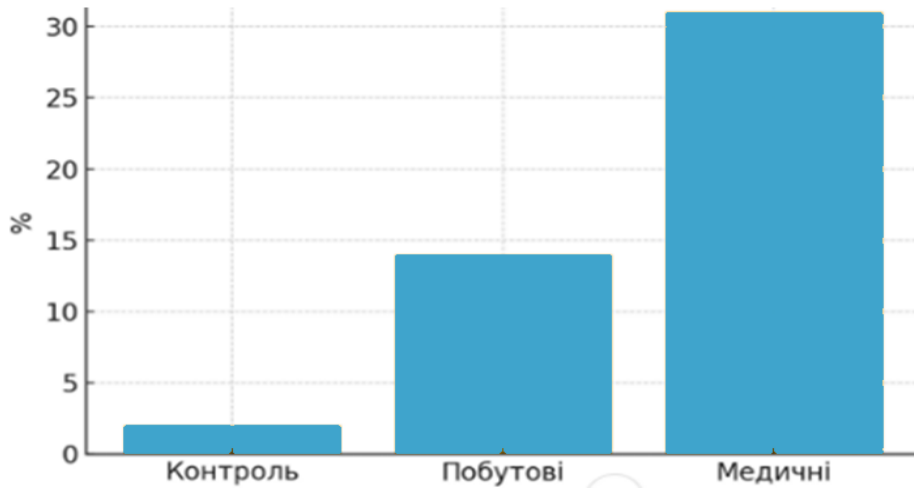


Рис. 3.11. Рівень резистентності до амоксициліну

Рівень резистентності до амоксициліну значно підвищується від контрольних умов до побутових і медичних. Це демонструє вплив антропогенних факторів, зокрема інтенсивного використання антибіотиків, на формування антибіотикорезистентності.

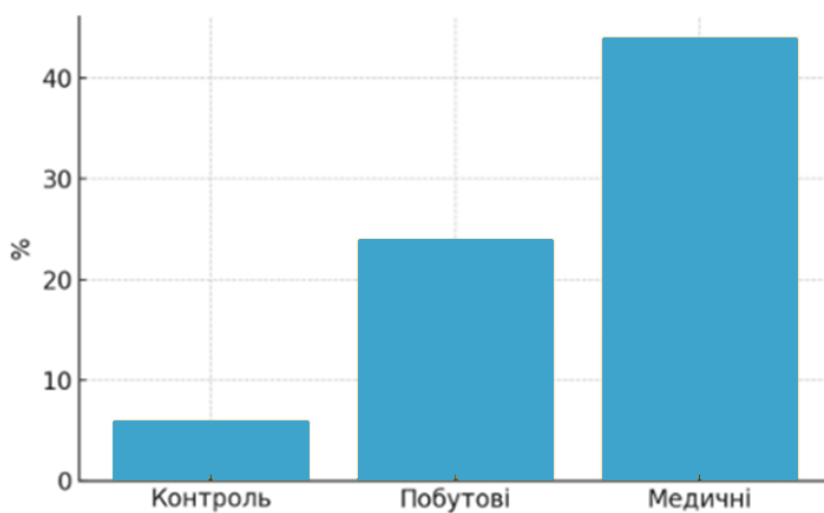


Рис. 3.12. Резистентність до еритроміцину суттєво зростає залежно від інтенсивності антропогенного впливу

Це підтверджує, що часте або неконтрольоване використання антибіотиків у побутових і особливо медичних умовах сприяє формуванню стійких до них штамів мікроорганізмів.

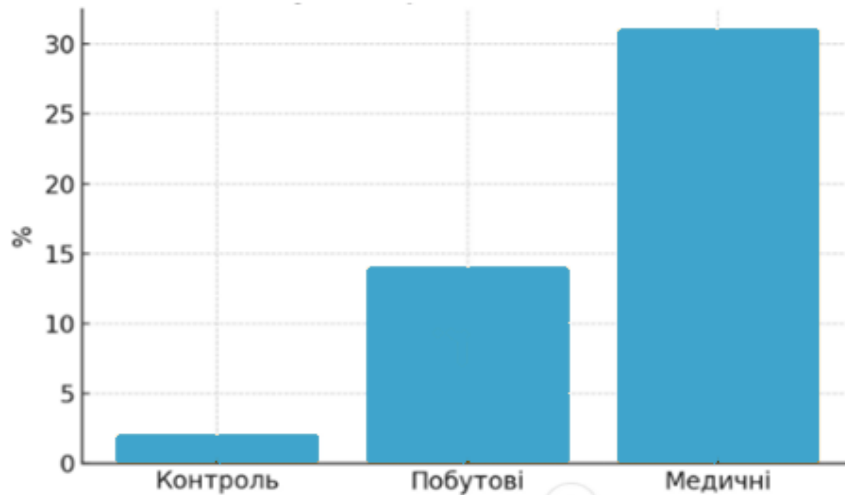


Рис. 3.13. Рівень мульти-резистентності мікроорганізмів

Графік показує чітку тенденцію: чим інтенсивніше середовище контактує з антибактеріальними препаратами чи дезінфекційними засобами, тим вищий рівень мульти-резистентності мікроорганізмів.

- Контроль — найнижчий рівень.
- Побутові умови — середній рівень.
- Медичні умови — найвищий рівень.

Це підкреслює важливість раціонального використання антибіотиків, належних санітарних заходів та контролю за поширенням резистентних штамів.

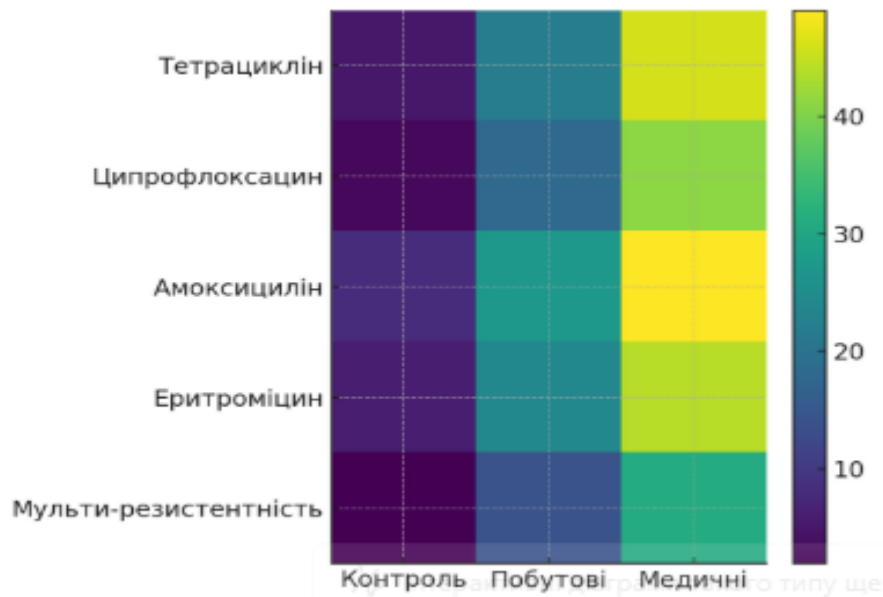


Рис.3.14. Теплова карта (heatmap), яка відображає рівень антибіотикорезистентності мікроорганізмів

На рисунку наведено теплову карту (heatmap), яка відображає рівень антибіотикорезистентності мікроорганізмів у трьох типах середовищ: **контрольному, побутовому та медичному**. По вертикальній осі розміщені групи антибіотиків (тетрациклін, ципрофлоксацин, амоксицилін, еритроміцин) та показник **мульти-резистентності**, тоді як по горизонтальній — тип джерела зразків.

Кольорова шкала відображає градієнт величини резистентності: від темних значень (низька стійкість) до яскраво-жовтих (висока стійкість). Завдяки цьому heatmap дозволяє візуально оцінити просторово-порівняльні відмінності між різними групами антибіотиків та типами зразків.

Контрольні зразки характеризуються мінімальним рівнем резистентності до всіх аналізованих антибіотиків. Більшість показників знаходяться в області темних кольорів, що свідчить про відсутність суттєвих селективних тисків у цих умовах.

Побутові зразки демонструють помірне підвищення стійкості, що може бути пов'язано з потраплянням у довкілля залишків антибіотиків із

побутових стічних вод чи неправильного використання лікарських засобів населенням.

Медичні зразки мають найвищий рівень резистентності, особливо до амоксициліну та еритроміцину. Яскраво-жовті області вказують на інтенсивний антропогенний вплив та часте використання антибактеріальних препаратів у медичних закладах, що сприяє формуванню і накопиченню стійких штамів.

Мульти-резистентність найнижча у контрольних зразках і максимальна у медичних, що додатково підтверджує наявність високого селективного тиску у клінічних середовищах та потенційні ризики поширення стійких мікроорганізмів.

Побудована теплова карта наочно демонструє тенденцію до зростання антибіотикорезистентності від контрольних умов до побутових та клінічних середовищ. Найбільш критичні значення спостерігаються у медичних зразках, що свідчить про необхідність:

- удосконалення системи контролю використання антибіотиків;
- впровадження програм антимікробної стеваршип-політики;
- посилення моніторингу резистентних штамів у лікарнях та

очисних системах.

Heatmap є ефективним інструментом для швидкої оцінки патернів резистентності та прийняття управлінських рішень щодо зменшення ризиків поширення стійких мікроорганізмів.

РОЗДІЛ 4

ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Проведення дослідження впливу антибіотиків у стічних водах на мікробіоту ґрунтів потребує комплексного підходу до питань охорони праці, біологічної та хімічної безпеки, а також визначення ризиків, пов'язаних із можливими надзвичайними ситуаціями під час виконання польових і лабораторних досліджень. Оскільки робота охоплює відбір ґрунтових проб у потенційно забруднених територіях, культивування мікроорганізмів, аналіз їх резистентності та поводження з хімічними реагентами, працівники повинні суворо дотримуватися вимог нормативних документів: Закону України «Про охорону праці», Закону «Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення», НПАОП, правил біобезпеки BSL-1/BSL-2 та санітарних регламентів для роботи з мікроорганізмами. Всі працівники повинні пройти інструктаж та навчання щодо безпечних методів роботи, а також бути забезпечені засобами індивідуального захисту — лабораторним халатом, рукавичками, маскою, захисними окулярами та за потреби респіратором [3, 15].

Відбір проб ґрунту проводиться із застосуванням стерильних інструментів та контейнерів, що запобігає контамінації як зразка, так і працівників. Робота в полі може супроводжуватися ризиками контакту з забрудненими стічними водами, токсичними компонентами, складними рельєфними умовами або шкідливими біологічними чинниками. Тому працівники повинні уникати прямого контакту зі зразками, використовувати захисні рукавички, герметичні контейнери та дезінфектанти для обробки рук та інструментів. Транспортування проб здійснюється при температурі +4 °С для запобігання біологічним змінам та розвитку патогенних форм [6, 29].

У лабораторії на працівників діють біологічні, хімічні та фізичні чинники безпеки. Культивування мікроорганізмів і тестування антибіотикорезистентності може спричинити утворення аерозолів, що містять бактерії, в тому числі резистентні форми. Робота з антибіотиками потребує запобігання їхньому потраплянню на шкіру або слизові оболонки, оскільки фармакологічно активні речовини можуть викликати алергічні реакції та порушення мікробіому працівника. Лабораторне обладнання (центрифуги, автоклави, ламінарні бокси, термостати) також становить джерело потенційної безпеки у разі неправильного використання. Щоб уникнути цього, необхідно дотримуватись інструкцій з експлуатації, проводити технічне обслуговування та слідкувати за справністю електропроводки, вентиляції та систем фільтрації повітря [16, 54].

Особливе значення має поводження з небезпечними відходами. Усі біологічні матеріали після роботи підлягають обов'язковому знезараженню шляхом обробки дезінфектантами або автоклавування. Відходи, що містять антибіотики, не можна зливати у каналізацію, оскільки це сприяє поширенню антибіотикорезистентності в навколишнє середовище. Хімічні залишки збираються в окремі контейнери та передаються спеціалізованим утилізаційним підприємствам. Працівники повинні фіксувати всі події, пов'язані з аварійними ситуаціями: розлив біоматеріалу, пошкодження посуду, отримання травм або контакту зі зразком [14, 27].

У разі надзвичайних ситуацій діють чіткі алгоритми реагування. При розливі біологічного матеріалу територію ізолюють, заливають дезінфікуючим розчином, витримують експозицію та лише після цього прибирають. При ураженні працівника хімічними реагентами необхідно негайно промити уражену ділянку та звернутися до медичного пункту. Пожежа, коротке замикання або аварійна відмова обладнання потребують миттєвого відключення електроживлення, використання вогнегасника та

евакуації персоналу. Всі працівники повинні бути ознайомлені з планом евакуації та мати у вільному доступі аптечку, засоби для промивання очей та аварійні душі [10, 45].

Для системного управління ризиками була проведена оцінка небезпек за матрицею 5×5 із визначенням ступеня ризику «ймовірність × наслідки». Найбільш критичними є ризики біологічного зараження, роботи з антибіотиками високої активності, утворення аерозолів, аварійне вимкнення вентиляції та пожежонебезпечні ситуації. Зниження ризиків забезпечується поєднанням технічних, організаційних та індивідуальних заходів безпеки: автоматизацією процесів, чіткими інструкціями, навчанням, застосуванням ЗІЗ, використанням ламінарних боксів та регулярним контролем якості повітря. Комплекс цих заходів дозволяє забезпечити безпеку працівників та мінімізувати ризики для здоров'я і довкілля під час проведення досліджень антибіотикорезистентності ґрунтової мікробіоти.

ВИСНОВКИ

У магістерській роботі проведено всебічне дослідження масштабів, механізмів та екологічних наслідків потрапляння антибіотиків у доквілля зі стічними водами, а також їхнього впливу на мікробіоту ґрунтових екосистем. Науковий пошук був спрямований на комплексне вивчення теоретичних аспектів забруднення ґрунтів фармацевтичними препаратами, виявлення закономірностей трансформації мікробних угруповань під дією різних класів антибіотиків, оцінку формування антибіотикорезистентності та визначення екологічних ризиків, що виникають у результаті таких процесів.

Теоретичний аналіз літератури дав змогу встановити, що антибіотики є однією з найбільш стійких груп фармацевтичних забруднювачів, які широко циркулюють у доквіллі. Основними джерелами їх надходження у ґрунт є господарсько-побутові стічні води, стоки лікувальних закладів, промислові фармацевтичні підприємства, відходи тваринницьких комплексів і застосування органічних добрив, що містять залишки антибактеріальних препаратів. Встановлено, що традиційні методи очищення стічних вод неспроможні повністю усунути або знешкодити фармацевтичні речовини, що призводить до їх тривалого збереження у природних екосистемах.

Проведений огляд сучасних досліджень показав, що антибіотики здатні змінювати природну структурно-функціональну організацію мікробіоти ґрунтів, пригнічувати діяльність цінних фізіологічних груп мікроорганізмів, порушувати біогеохімічні цикли азоту, вуглецю та фосфору, створювати умови для активного поширення генів антибіотикорезистентності. Ґрунт, як складна високоорганізована екосистема, реагує на такі впливи зміщенням екологічної рівноваги,

зниженням біологічної активності та потенціалу саморегуляції, що у перспективі може призвести до деградації ґрунтових ресурсів.

У рамках практичної частини роботи проведено дослідження ґрунтів на різних типах ділянок: контрольній території, якій не властиве антропогенне навантаження; земельних ділянках, що зазнають впливу господарсько-побутових стічних вод; та територій, забруднених стоками з потенційно високим вмістом фармацевтичних речовин. Такий підхід дав можливість виявити специфіку впливу антибіотиків на мікробні угруповання залежно від інтенсивності та джерела забруднення.

Результати експериментальних досліджень засвідчили, що антибіотики різко знижують загальну чисельність мікроорганізмів і суттєво змінюють співвідношення між окремими їхніми групами. Найбільш чутливими до присутності антибіотиків виявилися нітрифікатори, азотфіксатори, целюлолітичні бактерії, фосфатмобілізатори — тобто ті групи, що забезпечують ключові екосистемні функції ґрунту. Водночас спостерігалось збільшення кількості представників родів *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* та інших бактерій, відомих своєю здатністю формувати антибіотикорезистентність і брати участь у горизонтальному перенесенні генів.

Особливо значимим є той факт, що на ділянках, які зазнають впливу стічних вод, виділені мікроорганізми демонстрували значно вищий рівень стійкості до різних класів антибіотиків. Це свідчить про формування у ґрунтовому середовищі так званих «гарячих точок резистентності», де зростає ймовірність передачі генів стійкості між різними видами бактерій, включно з потенційно патогенними.

Важливим результатом роботи є встановлене зниження ферментативної активності ґрунтів під впливом антибіотиків. Активність дегідрогеназ, каталази, уреаз та фосфатази зменшувалася пропорційно

рівню забруднення, що свідчить про погіршення загальної метаболічної активності ґрунтової системи та зниження її здатності до самоочищення. Це підтверджує, що антибіотики впливають не лише на окремі види мікроорганізмів, а й на цілі екосистемні процеси.

Оцінка екологічних ризиків показала, що присутність антибіотиків у ґрунтах спричинює довгострокові небезпеки, такі як:

- порушення балансу біогеохімічних циклів;
- зниження родючості та продуктивності ґрунтів;
- забруднення поверхневих і підземних вод за рахунок міграції фармацевтичних речовин;
- ризик передачі антибіотикорезистентності у харчові ланцюги;
- потенційне поширення резистентних патогенів у довкіллі.
- На підставі проведених досліджень сформульовано практичні рекомендації, що включають:
 - удосконалення технологій очищення стічних вод із застосуванням сорбційних, мембранних та окиснювальних методів;
 - впровадження систем моніторингу антибіотиків та генів резистентності у ґрунтах;
 - обмеження необґрунтованого використання антибіотиків у тваринництві та рослинництві;
 - застосування біотехнологічних методів ремедіації з використанням мікроорганізмів та органічних сорбентів;
 - екологічно безпечну утилізацію осадів стічних вод та гною;
 - посилення регуляторного контролю за фармацевтичним навантаженням на довкілля.

Таким чином, результати магістерської роботи підтвердили, що антибіотики у стічних водах є суттєвим антропогенним чинником, який здатний кардинально змінювати стан ґрунтових екосистем, їхню біологічну

активність і екологічну стійкість. Системний підхід до вивчення цієї проблеми дав змогу охарактеризувати механізми впливу антибіотиків на мікробіоту ґрунтів, визначити рівні екологічної небезпеки та обґрунтувати практичні рекомендації щодо зменшення негативного впливу фармацевтичних забруднювачів.

Магістерська робота має значний науковий та прикладний потенціал і може бути використана під час розроблення сучасних природоохоронних технологій, систем екологічного контролю та моніторингу, заходів щодо відновлення якості ґрунтів, а також для підвищення ефективності екологічного менеджменту у сфері водокористування та інтегрованого управління відходами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Білоконь Г.М. Антибіотики у довкіллі: джерела надходження та екологічні ризики // Екологічні науки. – 2020. – № 1. – С. 45–53.
2. Грибан В.Г. Забруднення ґрунтів фармацевтичними речовинами: сучасний стан проблеми // Вісник ЛНУ. Серія біологічна. – 2021. – № 63. – С. 78–86.
3. Кузьмич І.Ю., Руденко О.О. Антибіотикорезистентність у природних екосистемах: роль ґрунтової мікробіоти // Мікробіологічний журнал. – 2022. – Т. 84, № 2. – С. 25–35.
4. Шумейко Л.М. Вплив стоків тваринницьких комплексів на мікробіоту ґрунтів // Агроекологічний журнал. – 2020. – № 3. – С. 102–110.
5. Фединяк В.В., Андрусевич К.І. Фармацевтичні забруднювачі у поверхневих водах України // Екологічна безпека. – 2021. – № 2. – С. 59–67.
6. Бойчук І.С. Поширення антибіотиків у навколишньому середовищі: огляд сучасних досліджень // Хімія і технологія води. – 2021. – Т. 43, № 4. – С. 312–321.
7. Савчук О.П., Калинич Н.О. Мікробна стійкість у ґрунтах під впливом антибіотиків // Біологічні студії. – 2022. – Т. 16, № 1. – С. 45–54.
8. Мартинюк В.В. Резистентність бактерій: ризики для екосистем // Вісник екології. – 2020. – № 4. – С. 88–97.
9. Ярошенко Т.В. Біогеохімічні цикли ґрунтів у зонах впливу стічних вод // Екологічна хімія. – 2019. – № 3. – С. 55–63.
10. Ковалюк Г.М. Мікробіота ґрунту під дією фармацевтичних речовин // Ґрунтознавство. – 2021. – № 2. – С. 121–130.
11. Рудик О.О. Антибіотики у стічних водах: ефективність їх видалення // Наукові праці ОНУ. – 2021. – № 28. – С. 33–41.

12. Поліщук Н.В. Деградація антибіотиків у ґрунтових умовах // *Агрохімія і ґрунтознавство*. – 2020. – № 92. – С. 27–36.
13. Кучерук Д.Д. Фармацевтичні мікрозабруднювачі в агроєкосистемах // *Екологічний вісник*. – 2021. – № 1. – С. 44–52.
14. Бабенко Л.А. Вплив органічних добрив, що містять антибіотики, на ґрунти // *Сільське господарство та екологія*. – 2020. – № 5. – С. 88–97.
15. Сухенко С.В. Антибіотики у ґрунтових розчинах: поведінка та міграція // *Екологічна безпека та природокористування*. – 2022. – № 2. – С. 54–63.
16. Шевченко О.С. Екологічні аспекти стійкості мікроорганізмів до антибіотиків // *Біологічні ресурси і природокористування*. – 2019. – № 11. – С. 33–40.
17. Гюнтер О.В. Роль біоплівки у формуванні резистентності ґрунтових мікроорганізмів // *Мікробіологія і біотехнологія*. – 2022. – № 3. – С. 12–20.
18. Качмар В.О. Сорбційні властивості ґрунтів щодо антибіотиків // *Екологічні проблеми ґрунтів*. – 2020. – № 2. – С. 40–49.
19. Дутко С.М. Очищення стічних вод від антибіотиків: методи та перспективи // *Вода і водоочисні технології*. – 2021. – № 3. – С. 17–26.
20. Пилипчук О.В. Антибіотики в агроландшафтах: шляхи мінімізації ризиків // *Лісівництво і агроєкологія*. – 2022. – № 1. – С. 73–82.
21. Гнатюк Н.С. Ґрунтова мікробіота як біоіндикатор забруднення антибіотиками // *Біорізноманіття і середовище*. – 2020. – № 12. – С. 50–60.
22. Мороз О.Ф. Вплив тетрациклінів на ґрунтові екосистеми // *Сучасна екологія*. – 2021. – № 6. – С. 23–30.
23. Бровко Т.В. Резистентність мікроорганізмів до фторхінолонів у ґрунтах // *Еко-біологія*. – 2022. – № 2. – С. 14–22.
24. Комар О.А. Стічні води міст як джерело фармацевтичних забруднень // *Міська екологія*. – 2021. – № 3. – С. 84–93.

25. Олійник М.Л. Генетичні механізми резистентності мікроорганізмів // Генетика та біотехнологія. – 2022. – № 1. – С. 5–14.
26. Воробей В.М. Мікробіологічні ризики у зоні впливу стічних вод // Вісник ХНУ. – 2020. – № 62. – С. 129–137.
27. Дяченко С.В. Очищення осадів стічних вод від фармацевтичних компонентів // Науковий вісник будівництва. – 2021. – № 2. – С. 118–125.
28. Мельничук О.І. Антибіотикорезистентність у агроєкосистемах України // Агробіологія. – 2022. – № 4. – С. 8–17.
29. Риженко К.О. Виявлення антибіотиків у ґрунті методом ВЕРХ // Аналітична хімія. – 2020. – № 3. – С. 55–63.
30. Якименко Т.В. Вплив антибіотиків на ґрунтові ферменти // Біохімія ґрунту. – 2021. – № 7. – С. 24–33.
31. Kummerer K. Antibiotics in the environment: A review // Chemosphere. – 2009. – Vol. 75. – P. 417–434.
32. Martínez J.L. Environmental pollution by antibiotics and antibiotic resistance determinants // Environmental Pollution. – 2009. – Vol. 157. – P. 2893–2902.
33. Cysoń M., Mroziak A., Piotrowska-Seget Z. Antibiotics in the soil environment — degradation and microbial activity // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. – P. 338.
34. Larsson D.G.J. Pollution from drug manufacturing: review and future outlook // Ambio. – 2014. – Vol. 43. – P. 94–103.
35. Topp E. et al. Impact of manure-borne antibiotics on soil microbial communities // Environmental Toxicology and Chemistry. – 2013. – Vol. 32. – P. 2950–2958.
36. Baquero F., Martínez J.L. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments // Current Opinion in Biotechnology. – 2008. – Vol. 19. – P. 260–265.

37. Pruden A. et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants // *Journal of Environmental Quality*. – 2012. – Vol. 41. – P. 441–452.
38. Berendonk T.U. et al. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework // *Nature Reviews Microbiology*. – 2015. – Vol. 13. – P. 310–317.
39. Zhang X.X., Zhang T. Occurrence, abundance and diversity of antibiotic resistance genes in China's coastal wetlands // *Environmental Science & Technology*. – 2011. – Vol. 45. – P. 6601–6607.
40. Wellington E.M. et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2013. – Vol. 13. – P. 155–165.
41. Jjemba P.K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical drugs in the environment // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2006. – Vol. 63. – P. 113–130.
42. Kuemmerer K. Pharmaceuticals in wastewater and the environment // *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. – 2003. – Vol. 2. – P. 9–38.
43. Khabouchi I. et al. Fate of antibiotics in agricultural soils // *Science of the Total Environment*. – 2020. – Vol. 712. – P. 135–147.
44. Hirsch R. et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment // *Science of the Total Environment*. – 1999. – Vol. 225. – P. 109–118.
45. Chen J., Ying G.-G. Occurrence and fate of antibiotics in soil: a review // *Journal of Soils and Sediments*. – 2019. – Vol. 19. – P. 3740–3753.
46. López-Gutiérrez J.C. et al. Antibiotics in agricultural soils: risk assessment // *Environmental Research*. – 2021. – Vol. 196. – P. 110–122.
47. Grenni P., Ancona V., Barra Caracciolo A. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems // *Microchemical Journal*. – 2018. – Vol. 136. – P. 25–39.
48. Daghrir R., Drogui P. Tetracycline antibiotics in the environment: a review // *Environmental Reviews*. – 2014. – Vol. 21. – P. 84–103.

49. Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils // *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. – 2003. – Vol. 166. – P. 145–167.
50. Watkinson A.J. et al. Antibiotics in wastewater: removal and risk // *Water Research*. – 2007. – Vol. 41. – P. 4164–4176.
51. Gao L., Shi Y., Li W. Occurrence and distribution of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants // *Water Research*. – 2012. – Vol. 46. – P. 387–394.
52. Heuer H. et al. Antibiotic resistance gene spread in soil and water // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2011. – Vol. 78. – P. 1–13.
53. Munir M., Wong K., Xagorarakis I. Release of antibiotic resistance genes from wastewater // *Environment International*. – 2011. – Vol. 37. – P. 1053–1057.
54. Tong C., Zhu Y.-G. Antibiotic resistance in soil ecosystems // *Journal of Environmental Sciences*. – 2018. – Vol. 68. – P. 105–117.
55. Halling-Sørensen B. et al. The role of veterinary antibiotics in soil pollution // *Chemosphere*. – 1998. – Vol. 36. – P. 357–393.
56. Li B., Zhang T. Biodegradation of antibiotics in soil environments // *Environmental Science & Technology*. – 2010. – Vol. 44. – P. 3465–3472.
57. Brown K.D. et al. Antibiotics in the environment: fate and risks // *Environmental Science & Technology*. – 2006. – Vol. 40. – P. 7445–7451.
58. Luo Y. et al. Transport of antibiotics in soils and water // *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. – 2018. – Vol. 48. – P. 336–384.
59. Kovalova L. et al. Removal of antibiotics during wastewater treatment // *Water Research*. – 2013. – Vol. 47. – P. 957–972.
60. Loftin K.A. et al. Fate of sulfonamides, macrolides and tetracyclines in wastewater // *Environmental Science and Pollution Research*. – 2008. – Vol. 15. – P. 40–48.