

© Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В., Гелашвили Д.Б., Зазнобина Н.И., Жирнов В.А., Молодцова С.Б., 2021

УДК 579.26

Видовой состав микробиоты автобусов внутригородских маршрутов

И.В. Белова¹, А.Г. Точилина¹, И.В. Соловьева¹, Д.Б. Гелашвили²,
Н.И. Зазнобина², В.А. Жирнов¹, С.Б. Молодцова¹

¹ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора,
ул. Малая Ямская, д. 71, г. Нижний Новгород, 603950, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Минобрнауки России,
просп. Гагарина, д. 23, г. Нижний Новгород, 603950, Российская Федерация

Резюме: *Введение.* В нормативных документах санитарного законодательства Российской Федерации отсутствует нормирование микробиологических показателей для салонов городского автотранспорта, осуществляющего пассажирские перевозки. Однако на примере крупномасштабных исследований микробиома общественного транспорта, проведенных в разных странах, доказано, что и внешняя среда (остановки и платформы), и внутренняя среда салонов содержат большое количество разнообразных микроорганизмов, на численность которых не оказывают влияния ни температура воздуха, ни длительность маршрута, ни количество пассажиров. *Цель работы:* изучение видового состава микробиоты рейсовых автобусов, курсирующих по внутригородским маршрутам, и оценка ее структуры с помощью методов синэкологического и эпидемиологического анализа. *Материал и методы.* Материалом для исследования служили смывы с общедоступных поверхностей салонов автобусов. Всего обследован 41 автобус 16 маршрутов из трех условных групп («нагорная», «заречная» и «межрайонная»). В работе использовали методы классической бактериологии, MALDI TOF масс-спектрометрии, синэкологического анализа. *Результаты и обсуждение.* В результате исследования выделено 85 видов микроорганизмов, из них 15 обнаруживались во всех группах маршрутов. Показано, что микробиота автобусов подчиняется тем же экологическим закономерностям, что и природные (естественные) микробиоценозы. Наибольшим количеством видов представлены род *Staphylococcus* (16), *Acinetobacter* (11), *Bacillus* (11), *Pseudomonas* (8), *Pantoea* (5). В наибольшем количестве выделялись микроорганизмы родов *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Pantoea*. Среди 15 общих для трех групп автобусов видов микроорганизмов 60 % являются представителями микробиоты человека. Показано, что в наибольшем количестве микроорганизмы выделяются с тканевых спинок сидений (до 18600 КОЕ/см²), ручек спинок сидений (до 76500 КОЕ/см²), кожаных петель-держателей (до 6400 КОЕ/см²), а также с участков поверхностей с явными загрязнениями (11200 КОЕ/см²). *Выводы.* Полученные данные свидетельствуют о необходимости нормирования микробиологических показателей и разработки методических указаний по контролю эффективности проводимых дезинфекционных мероприятий в салонах общественного пассажирского автотранспорта.

Ключевые слова: микроорганизмы, микробиота, общественный автотранспорт.

Для цитирования: Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В., Гелашвили Д.Б., Зазнобина Н.И., Жирнов В.А., Молодцова С.Б. Видовой состав микробиоты автобусов внутригородских маршрутов // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 4 (337). С. 10–17. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-10-17>

Информация об авторах:

✉ **Белова** Ирина Викторовна – к.м.н., вед. науч. сотр. лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3402-1160>.

Точилина Анна Георгиевна – к.б.н., ст. науч. сотр. лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7753-5730>.

Соловьева Ирина Владленовна – д.б.н., доцент, вед. науч. сотр. заведующий лабораторией микробиологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

Гелашвили Давид Бежанович – д.б.н., профессор кафедры экологии Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского; e-mail: ecology@bio.unn.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9734-2047>.

Зазнобина Наталья Ивановна – к.б.н., доцент кафедры экологии Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского; e-mail: dis212.166.12@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8176-0981>.

Жирнов Владимир Анатольевич – к.б.н., науч. сотр. лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1162-2417>.

Молодцова Светлана Борисовна – науч. сотр. лаборатории микробиома человека и средств его коррекции ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4750-5925>.

Species Composition of Microbiota in City Buses

I.V. Belova,¹ A.G. Tochilina,¹ I.V. Solovyeva,¹ D.B. Gelashvili,² N.I. Zaznobina,² V.A. Zhirnov,¹ S.B. Molodtsova¹

¹Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
71 Malaya Yamskaya Street, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

²National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
23 Gagarin Avenue, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation

Summary. *Introduction:* Regulatory documents of the Russian sanitary legislation provide no standardization of microbiological indicators for urban public transportation. At the same time, extensive studies of public transport microbiome conducted in different countries demonstrated that the external environment (stations and platforms) and the interior of vehicles contain a large number of various microorganisms, the number of which is independent of air temperature, route duration, or the number of passengers. *The objective* of our work was to study the species composition of microbiota in urban buses and to assess its structure using methods of synecological and epidemiological analysis. *Methods:* We analyzed wipe samples from generally accessible bus interior surfaces. In total, 41 buses of 16 routes from three conditional groups ("Nagornaya" (Upland), "Zarechnaya" (Transverse) and "Interdistrict") were examined. We applied methods of classical bacteriology, MALDI-TOF mass spectrometry for microorganism identification, and synecological analysis. *Results and discussion:* We identified 85 types of microorganisms, 15 of which were found in all groups of routes. The bus microbiota followed the same ecological laws as natural microbiocenoses. The greatest number of species was represented by genera *Staphylococcus* (16), *Acinetobacter* (11), *Bacillus* (11), *Pseudomonas* (8), and *Pantoea* (5). The majority of identified microorganisms belonged to genera *Acinetobacter*, *Enterobacter*, and *Pantoea*. Among 15 species of microorganisms "common" to three groups of buses, 60 % were representatives of human microbiota. Microorganisms were found in large quantities on fabric seat backs (up to 18,600 CFU/cm²), seat back handles (up to 76,500 CFU/cm²), leather loop-holders (up to 6,400 CFU/cm²), and visually dirty surfaces (11,200 CFU/cm²). *Conclusions:* Our findings indicate the need to standardize microbiological indicators and develop guidelines for monitoring the efficiency of disinfection of interiors of public passenger vehicles.

Keywords: microorganisms, microbiota, public road transport.

For citation: Belova IV, Tochilina AG, Solovyeva IV, Gelashvili DB, Zaznobina NI, Zhirnov VA, Molodtsova SB. Species composition of microbiota in city buses. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2021; (4(337)):10–17. (In Russian). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-337-4-10-17>

Author information:

✉ Irina V. **Belova**, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means of Its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3402-1160>.

Anna G. **Tochilina**, Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means of Its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7753-5730>.

Irina V. **Solovyeva**, D.Biol.Sc., Associate Professor, Leading Researcher, Head of the Microbiology Laboratory, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3136-9500>.

David B. **Gelashvili**, D.Biol.Sc., Professor, Department of Ecology, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; e-mail: ecology@bio.unn.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9734-2047>.

Nataly I. **Zaznobina**, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Department of Ecology, National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; e-mail: dis212.166.12@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8176-0981>.

Vladimir A. **Zhirnov**, Candidate of Biological Sciences, Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means of Its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1162-2417>.

Svetlana B. **Molodtsova**, Researcher, Laboratory of Human Microbiome and Means of Its Correction, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; e-mail: lab-lb@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4750-5925>.

Введение. К настоящему времени в микробиологии, паразитологии, молекулярной биологии и эпидемиологии накоплены обширные данные о бактериях, общих для человека, животных и растений, механизмах их циркуляции и выживания в природе, резервуарах, источниках возбудителей и путях передачи [1–4]. С 70-х годов прошлого века в эпидемиологии укоренилось представление об окружающей среде как о резервуаре возбудителей, к которому стали относить не только почву и поверхностные водоемы с обитающими в них беспозвоночными, растениями и водорослями, но и некоторые технологические объекты (душевые и вентиляционные системы, кондиционеры и др.), медицинские приборы, а также предметы быта и транспорт. Городской пассажирский транспорт ежедневно перевозит десятки тысяч пассажиров, становясь одновременно приемником и источником бактериальной контаминации [5–7]. Чаще всего через грязные руки, а также при кашле и чихании на поручни, сиденья и прочие контактные поверхности попадают многочисленные обитатели микробиоты человека [8, 9].

Сапрофитическая фаза облигатных паразитов человека (антропонозы) относительно кратковременна из-за их низкой устойчивости: во внешней среде эти бактерии гибнут, если не успевают проникнуть в организм другого индивидуального хозяина и продолжить существование популяции. У факультативных паразитов человека и животных упомянутая фаза тоже не всегда продолжительна вследствие потребности бактерий в симбиотических отношениях с широким кругом хозяев. Однако сапрофитическая фаза может пролонгироваться в неблагоприятных условиях существования возбудителя за счет особых механизмов самосохранения, выработанных в ходе эволюции симбиотических систем (образование биопленок, спор, некультивируемых форм и др.) [10–12]. Такие представители нормальной микробиоты организма человека характери-

зуются пластичностью, приспособляемостью к скудному питанию и резистентностью как к условиям внешней среды, так и к антисептикам, дезинфектантам и антибиотикам¹ [10, 13–15], а также способностью вызывать инфекции со значительным эпидемическим потенциалом, тяжелым течением с высокой летальностью и инвалидизацией пациентов.

В 2020 г. в связи с обнаружением новой коронавирусной инфекции в целях предупреждения ее распространения были введены в действие Рекомендации по проведению уборки и дезинфекции автотранспорта², но в них не приведены показатели для контроля качества дезинфекции. Что касается более раннего периода, то практически все действующие нормативные документы санитарного законодательства до 2020 г. по организации пассажирских перевозок относятся к области коммунальной гигиены и гигиены труда. Вопросы эпидемиологической безопасности рассматриваются только в некоторых санитарных правилах. Так, в СП 2.5.3650–20³ нормируются микробные показатели воздушной среды в железнодорожных вагонах, в салонах самолетов и на водном транспорте: общее микробное число (ОМЧ) – не более 2000 колониеобразующих единиц в 1 м³ (КОЕ/м³), гемолитические кокки – не более 3 % от ОМЧ. Для автобусов городских маршрутов бактериологические показатели не нормируются.

Однако, как показало исследование воздуха общественного транспорта [16], проведенное с использованием бактериологического метода, в салонах автобусов бактерий и грибов содержалось в два раза больше, чем в вагонах метро, а половину от всех выделенных микроорганизмов составляли сапротрофные бактерии, в большинстве своем представители почвенного микробиоценоза. Общее количество выделенных микроорганизмов составило 2463 ± 1041 КОЕ/м³, что соответствовало максимальному нормируемому значению ОМЧ для метрополитена в зимний период (исследование проводилось

¹ Зуева Л.П., Яфаев Р.Х. Эпидемиология: Учебник для вузов. Санкт-Петербург: Изд-во Фолиант, 2008. 64 с.

² МР 3.1/2.5.0163/1–20 «Рекомендации по проведению профилактических мероприятий и дезинфекции автотранспортных средств для перевозки пассажиров в целях недопущения распространения новой коронавирусной инфекции» Методические рекомендации. М.: Роспотребнадзор, 2020. Доступно по: <http://docs.cntd.ru/document/56429037>

³ СП 2.5.3650–20 «Санитарно-эпидемиологические требования к отдельным видам транспорта и объектам транспортной инфраструктуры». М.: Роспотребнадзор, 2020. Доступно: <http://docs.cntd.ru/document/566406892>

зимой, при температуре воздуха 0...+3 °С) или даже превышало его. Авторы установили, что основным фактором, обуславливающим численность микроорганизмов в транспорте, является их количество в воздухе окружающей среды. При этом существенных взаимосвязей между численностью выделенных бактерий с температурой воздуха, длительностью маршрута и количеством людей в транспорте выявлено не было.

В 2015 году Afshinneko E. с соавторами [17, 18] провели в Нью-Йоркском метрополитене крупномасштабное метагеномное исследование, в ходе которого были отобраны мазки с поверхностей турникетов, поручней, перил, скамеек, билетных касс, урн и т. д. Полученные образцы изучали методом секвенирования и последующего биоинформационного анализа. В результате было идентифицировано 1688 бактериальных, вирусных, архейных и эукариотических таксонов, 637 идентифицированы до вида. Среди них обнаруживались представители микробиоты кожи, ротовой полости и желудочно-кишечного тракта человека, а также почвенные микроорганизмы. С наибольшей частотой выделялись виды *Pseudomonas stutzeri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter radioresistans*, *Acinetobacter nosocomialis*, *Lysinibacillus sphaericus*, *Enterococcus casseliflavus*, *Brevundimonas diminuta*, *Acinetobacter lwoffii*, *Bacillus cereus* [17]. Часть ДНК из образцов принадлежала вирусам-бактериофагам, часть — эукариотическим организмам, в том числе в 0,2 % случаев выделялась ДНК человека, 48 % выделенной ДНК не соответствовала ни одному из известных организмов. Аналогичное исследование со схожими результатами было проведено и в Московском метрополитене [19]. Образцы для исследования были собраны с пяти типов поверхностей: пол, перила эскалаторов, информационные стенды, скамейки, поверхности стен на уровне плеч. В Московском метрополитене с наибольшей частотой выделялись представители *Dietzia spp.*, *Brevundimonas spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Arsenicicoccus spp.*, *Stenotrophomonas spp.* В данном исследовании было показано, что разнообразие микробов связано с пассажиропотоком на отдельных станциях. При этом в местах, где больше бактерий почвенного происхождения, биоразнообразие максимально, а в тех, где преобладает кожная микробиота, оно ниже.

На современном этапе для проведения масштабного изучения микробиоты все чаще отдается предпочтение молекулярно-генетическим методам исследования [20–22], поскольку классический бактериологический метод предполагает использование большого количества разнообразных селективных и дифференциально-диагностических питательных сред и занимает много времени от отбора проб до получения конечного результата. Однако выделение микроорганизмов культуральным методом позволяет судить не только о видовом

разнообразии микробиоценоза, но и о количественной представленности каждого вида, а использование для идентификации метода MALDI TOF масс-спектрометрии позволяет нивелировать недостатки классической бактериологии [23–26].

В связи с вышеизложенным особый интерес представляет изучение бактериальной обсемененности контактных поверхностей общественного наземного автотранспорта, которое может дать усредненную, но достаточно актуальную качественную и количественную информацию не только о составе микробиоты населения города, но и о миграции бактерий в городской среде.

Материалы и методы. Территориально Нижний Новгород расположен на слиянии двух рек, Оки и Волги, которые делят город на две части, резко различающиеся по характеру рельефа: на высоком берегу (Дятловы горы) располагается нагорная часть, на низинном берегу — заречная. В соответствии с указанными особенностями рельефа города были сформированы три группы модельных автобусных маршрутов: «нагорная», «заречная» и «межрайонная». Пробы отбирали в летний период — в июне и июле. Всего был обследован 41 автобус (рейсы по 16 маршрутам в нагорной, заречной частях (районах) города и межрайонные перевозки). В «нагорной» группе были обследованы автобусы муниципальных маршрутов № 1, 2, 72. В «заречной» группе был изучен микробиоценоз автобусов, курсирующих по маршрутам № 22, 65, 69 и 148. В «межрайонной» группе регулярных автобусных перевозок на наличие микробного обсеменения были обследованы автобусы маршрутов № 12, 26, 40, 43, 45, 57, 66, 77, 90.

Отбор локальных проб осуществляли согласно МУ 2657–82⁴ с поверхностей вертикальных и горизонтальных металлических поручней, пластиковых поручней, кожаных петель-держателей и тканевой обивки сидений: стерильным ватным тампоном, смоченным в 0,1%-й пептонной воде делали смыв со 100 см² выбранной поверхности. Для ограничения поверхностей использовали шаблон (трафарет), сделанный из проволоки. Трафарет имеет площадь 25 см², чтобы взять смывы с площади в 100 см², его накладывали 4 раза в разных местах поверхности контролируемого объекта. Далее тампон помещали в 5,0 мл 0,1%-й пептонной воды.

Изучение микробиоты салонов автобусов пассажирского автотранспорта проводилось в соответствии со стандартной методикой выделения микроорганизмов, описанной в МУК 4.2.2942–11⁵. При проведении бактериологического анализа использовали следующий набор стандартных коммерческих питательных сред: агар Эндо-ГРМ, мясопептонный агар (МПА), 5%-й кровяной агар, желточно-солевой агар (ЖСА), Сабуро-агар, питательная среда для определения КМАФАнМ (количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов).

⁴ МУ 2657–82 «Методические указания по санитарно-бактериологическому контролю на предприятиях общественного питания и торговли пищевыми продуктами» Доступно по: <https://meganorm.ru/Index2/4293763/429376390.htm> (дата обращения 18.02.2021).

⁵ МУК 4.2.2942–11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях» Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. 12 с.

Из доставленных в лабораторию образцов готовили 5 десятикратных разведений: в 4,5 мл 0,1%-й пептонной воды стерильной градуированной пипеткой вносили 0,5 мл исследуемого материала, тщательно перемешивали, не допуская образования пузырьков воздуха. Далее повторяли процедуру, каждый раз используя новую стерильную пипетку. В результате исследуемый материал оказывается разведенным в 10, 100, 1000 и т. д. раз.

Из каждого разведения делали высев на плотные питательные среды: 1 мл на среду для определения КМАФАнМ и по 0,1 мл на все остальные среды. Далее посев на агаре ЖСА инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 часов. Посевы на агаре Эндо, Сабуро, МПА и кровяном агаре инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 часов. При отсутствии роста на среде МПА и среде Сабуро в первые 18 часов посевы оставляли при температуре 28–30 °С до 5 суток. После инкубации проводили подсчет каждого вида колоний, выросших на питательной среде. По три изолированные колонии каждого вида брали на идентификацию.

Идентификацию всех выросших видов микроорганизмов проводили с использованием времяпролетного масс-спектрометра MALDI TOF Autoflex и программно-аппаратного комплекса BioTyper (Bruker Daltonics, США). Все измерения проводили в линейном режиме, детектируя положительные ионы. Для накопления масс-спектров мощность лазерного излучения устанавливали на уровне минимального порогового значения, достаточного для десорбции / ионизации образца. Параметры масс-спектрометра оптимизировали для диапазона m/z от 2000 до 20000. Для получения пригодных для идентификации масс-спектров в настройках прибора устанавливали следующие параметры: суммирование 110 серий спектров по 50 импульсов лазера. Внешнюю калибровку проводили с использованием бактериального тест-стандарта (Bruker Daltonics, США), в качестве матрицы использовали α -циано-4-гидроксикоричную кислоту (α -CHCA).

Пробоподготовка суточных культур исследуемых микроорганизмов проводилась методом прямого нанесения по стандартному протоколу, представленному в руководстве пользователя: биоматериал из изолированной колонии наносили на три ячейки мишени, наслаивали раствор матрицы, подсушивали, далее для каждой ячейки получали суммарные масс-спектры в автоматическом режиме. Идентификация, запись, обработка и анализ масс-спектров проводилась с помощью программы BioTyper RTC. О достоверности идентификации судили по значению коэффициента совпадения Score values (2,000–3,000 – идентификация до вида, 1,999–1,700 – идентификация до рода, 1,699–0 – идентификация не прошла) и значению категорий (А – достоверная идентификация до вида, В – достоверная идентификация до рода, С – недостоверный результат).

Далее вычисляли общее микробное число (ОМЧ) для каждой пробы и подсчитывали количество микроорганизмов каждого вида. Численность выделенных микроорганизмов выражали в КОЕ/см³.

Для расчета экологических параметров микробиоценоза общественного транспорта результаты качественного и количественного анализа микробиоты локальных проб, отобранных в каждом автобусе, сводили в объединенную пробу (далее – пробу) для данного автобуса, затем для нескольких автобусов одного маршрута, далее для всех автобусов каждой из трех групп маршрутов.

Экологический анализ исходных данных. Для количественного описания видового разнообразия сообществ микроорганизмов наземного общественного транспорта проводили расчеты с использованием общепринятых экологических индексов: видового разнообразия Шеннона^{6,7}, доминирования Симпсона⁷, видового богатства Маргалёфа⁸ и выравнинности Пиелу^{6,7}. Для количественной оценки видового сходства микробиоценозов модельных автобусных маршрутов применяли бинарный индекс Серенсена и для оценки сходства более чем двух проб – многомерный индекс биотической дисперсии Коха⁷.

Результаты и обсуждение. В ходе проведенной работы нами был впервые описан микробиологический пейзаж обсемененности общедоступных поверхностей автобусов 16 маршрутов общественного пассажирского автотранспорта Нижнего Новгорода.

В смывах, отобранных в автобусах муниципальных маршрутов г. Нижнего Новгорода, было обнаружено 85 видов микроорганизмов в количествах от 2×10^2 КОЕ/см³ до $9,3 \times 10^6$ КОЕ/см³. Среди выделенных бактерий были представители нормальных микробиоценозов кожи и желудочно-кишечного тракта человека, а также естественные обитатели внешней среды (в основном, почвы) (табл. 1). Наибольшим количеством видов представлены роды *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Pantoea* – 16, 11, 11, 8 и 6 видов соответственно. В салонах автобусов из «нагорной» группы обнаружено 34 вида микроорганизмов. В автобусах «заречной» группы – 30 видов бактерий. Наибольшее количество видов обнаружено на общедоступных поверхностях салонов автобусов «межрайонной» группы маршрутов – 68. Среди 15 общих для маршрутов всех трех групп автобусов видов микроорганизмов 9 являются представителями микробиоты человека, в подавляющем большинстве – микробиоценоза кожи.

В результате исследования локальных проб установлено, что наиболее обсемененными поверхностями в салоне автобусов являются тканевые спинки сидений (на них обнаружилось по 5–7 видов микроорганизмов в суммарном количестве до 18600 КОЕ/см³), ручки спинок сидений (до 76500 КОЕ/см³), кожаные петли-держатели горизонтальных поручней автобуса (до 6400 КОЕ/см³). Следует

⁶ Мэггаран Э. Экологическое разнообразие и его измерение / пер. с англ. М.: Мир, 1992. 184 с.

⁷ Одум Ю. Экология: в 2 т. / пер. с англ. М.: Мир, 1986. Т. 1. 328 с; Т. 2. 376 с.

⁸ Маргалёф Р. Облик биосферы / под науч. ред. М.Е. Виноградова, Г.Е. Михайловского. М.: Наука, 1992. 213 с.

Таблица 1. Видовое разнообразие микроорганизмов, циркулирующих в автобусах Нижнего Новгорода
Table 1. Species diversity of microorganisms inside Nizhny Novgorod buses

№	Род / Genus	Виды / Species
1	<i>Acinetobacter</i>	<i>A. baumannii</i> , <i>A. calcoaceticus</i> , <i>A. lwoffii</i> *, <i>A. johnsonii</i> , <i>A. junii</i> , <i>A. parvus</i> , <i>A. pittii</i> , <i>A. protophormia</i> , <i>A. radioresistens</i> , <i>A. schindleri</i> , <i>A. ursingii</i>
2	<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> 1
3	<i>Enterobacter</i>	<i>E. asburiae</i> , <i>E. cancerogenus</i> , <i>E. cloacae</i> 1
4	<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i>
5	<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>E. vulneris</i>
6	<i>Klebsiella</i>	<i>K. oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i>
7	<i>Listeria</i>	<i>L. grayi</i>
8	<i>Pantoea</i>	<i>P. agglomerans</i> , <i>P. calida</i> , <i>P. eucrinea</i> , <i>P. dispersa</i> , <i>P. septicum</i>
9	<i>Salmonella</i> spp.**	–
10	<i>Staphylococcus</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. capitis</i> , <i>S. cohnii</i> , <i>S. condiment</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. equorum</i> , <i>S. haemolyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. lutrae</i> , <i>S. pasteurii</i> , <i>S. pseudintermedius</i> , <i>S. saprophyticus</i> , <i>S. simulans</i> , <i>S. warneri</i> , <i>S. xylosum</i>
11	<i>Comamonas</i>	<i>C. testosteroni</i>
12	<i>Erwinia</i>	<i>Erwinia</i> spp.***
13	<i>Leclercia</i>	<i>L. adecarboxylata</i>
14	<i>Lelliottia</i>	<i>L. amnigena</i>
15	<i>Moraxella</i>	<i>M. osloensis</i>
16	<i>Pseudomonas</i>	<i>P. fulva</i> , <i>P. luteola</i> , <i>P. monteilii</i> , <i>P. oryziatransiens</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. stutzeri</i> , <i>P. taetrolens</i> , <i>P. xanthomarina</i>
17	<i>Serratia</i>	<i>S. rubidaea</i>
18	<i>Aerococcus</i>	<i>S. viridans</i>
19	<i>Bacillus</i>	<i>B. cereus</i> , <i>B. arsenicus</i> , <i>B. clausii</i> , <i>B. flexus</i> , <i>B. jeotgali</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. marisflavia</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. vietnamensis</i>
20	<i>Brachybacterium</i>	<i>B. faecium</i>
21	<i>Clostridium</i>	<i>C. huthaway</i>
22	<i>Corynebacterium</i>	<i>C. afermentans</i> , <i>C. callunae</i>
23	<i>Exiguobacterium</i>	<i>E. aurantiacum</i> , <i>Exiguobacterium</i> sp.***
24	<i>Kocuria</i>	<i>K. palustris</i>
25	<i>Lysinibacillus</i>	<i>L. fusiformis</i>
26	<i>Macrococcus</i>	<i>M. caseolyticus</i>
27	<i>Meyerozyma</i>	<i>M. guilliermondii</i>
28	<i>Micrococcus</i>	<i>M. luteus</i> , <i>M. lylae</i>
29	<i>Paenibacillus</i>	<i>P. illinoisensis</i>

Примечание:* Жирным шрифтом выделены общие виды микроорганизмов, обнаруженные в каждой из трех групп маршрутов регулярных пассажирских перевозок.

** Микроорганизмы рода *Salmonella* являются исключением метода MALDI TOF масс-спектрометрии и идентифицируются только до рода.

*** В базу данных референсных масс-спектров, прилагаемую к программному обеспечению масс-спектрометра, наряду со спектрами идентифицированных до вида коллекционных штаммов заложены спектры редко встречающихся микроорганизмов, идентифицированных до рода.

Notes: * Common types of microorganisms found in each of the three groups of routes of urban buses are in bold. ** Microorganisms of the genus *Salmonella* are an exception to the MALDI TOF mass spectrometry method and are identified only to the genus. *** The database of reference mass spectra contained in the software of the mass spectrometer, along with the spectra of collection strains identified to species, includes spectra of rare microorganisms identified to genus.

отметить, что на этих поверхностях обнаруживались представители микробиоты кожи и желудочно-кишечного тракта человека, такие как *A. lwoffii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *S. aureus*, *S. hominis*, *S. epidermidis*, *Salmonella* spp., т. е. условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать инфекционные заболевания у человека. Что касается пластиковых поверхностей (вертикальных и горизонтальных поручней), с них микроорганизмы выделялись в количестве 6–1980 КОЕ/см³. Полученные данные заставляют задуматься о целесообразности использования тканевых и пористых материалов для отделки салонов общественного транспорта: такие поверхности легче контаминироваться бактериями и хуже поддаются санитарной обработке. Также необходимо обратить внимание на явные загрязнения поручней: один их смывов был получен с поручня, испачканного жевательной резинкой. В этом образце были обнаружены три вида стафилококков общей численностью

11200 КОЕ/см³, тогда как на другом поручне в этом же автобусе ОМЧ составляло 34 КОЕ/см³.

Анализ видового сходства микробиоценозов автобусов проводили с использованием применяемых в экологии бинарных и многомерных индексов сходства сравниваемых объектов. В нашем случае объектами сравнения стали списки видов микроорганизмов. Видовые списки были проанализированы на различных иерархических уровнях групп маршрутов (см. раздел материалы и методы): внутригрупповом и межгрупповом. На внутригрупповом уровне анализировалось сходство видового состава микробиоценозов, обнаруженных в автобусах каждого из маршрутов, входящих в данную группу. Поскольку число маршрутов (*n*), входящих в каждую группу, было больше двух (*n* > 2), для анализа применяли многомерный индекс биотической дисперсии Коха (*I_k*). Для «нагорной» группы значение *I_k* составило 0.13, для «заречной» — 0.10, для «межрайонной» — 0.12, т. е. в автобусах разных

маршрутов внутри одной группы выделялось около 10 % одинаковых видов микроорганизмов. В данном случае низкие значения индекса биотической дисперсии Коха объясняются тем, что в каждой из сравниваемых групп обнаруживалось от 1 до 3 общих внутригрупповых видов, представленных *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и *A. lwoffii*. На межгрупповом иерархическом уровне маршрутов было выявлено уже 15 общих видов микроорганизмов (табл. 1), среди которых представители нормальной микробиоты человека составляли 60 %. С учетом числа видов микроорганизмов, выделенных в трех группах маршрутов: «нагорная» (34 вида), «заречная» (30 видов) и «межрайонная» (68 видов), что в сумме (τ) дает 130 видов, а также числа общих видов микроорганизмов в этих списках — 15 (табл. 1), индекс биотической дисперсии Коха, рассчитанный для трех групп маршрутов составил $I_k = (3-1) \times 15 / (130-15) = 0,26$. То есть в трех группах маршрутов обнаружено уже 26 % общих видов микроорганизмов. Также было проведено сравнение видовых списков в парах «нагорная — заречная», «нагорная — межрайонная», «межрайонная — заречная». В первой паре с числом сравниваемых видов 34 и 30 соответственно было выявлено 15 общих видов микроорганизмов, бинарный индекс сходства Серенсена составил 0,47. В паре «нагорная — межрайонная» (число выделенных видов 34 и 66 соответственно) 25 видов встречались в обеих группах, бинарный индекс сходства был равен 0,49. В паре «межрайонная — заречная» (66 и 30 видов) число общих видов равнялось 18, а индекс Серенсена — 0,37.

На следующем этапе работы был выполнен синэкологический анализ, предполагающий описание видовой структуры сообщества микробиоценоза общественного автотранспорта Нижнего Новгорода, характеризующейся не только числом видов (видовым богатством), но и их количеством, поскольку информацию о структуре и функционировании сообщества дают именно изменения в численностях видов. Полученные в результате анализа значения экологических индексов видового разнообразия Шеннона, доминирования Симпсона, видового богатства Маргалефа и выравнимости Пиелу для микробиоценоза 41 объединенной пробы общественного автотранспорта приведены в табл. 2.

Анализ приведенных в табл. 2 данных показал, что в «межрайонной» группе маршрутов

суммарная численность микроорганизмов (ОМЧ) имеет максимальное значение, а в «нагорной» — минимальное. При этом наибольшее количество видов также выявлено в «межрайонной» группе. Так как сравниваемые группы маршрутов существенно различаются по числу проб, ОМЧ и видовому богатству, для получения корректных результатов сравнения использовали показатель с нормировкой на суммарную численность — индекс видового богатства Маргалефа. В соответствии с полученными значениями индекса группы маршрутов в порядке убывания располагаются следующим образом: «межрайонная» > «заречная» > «нагорная».

Нужно обратить внимание, что во всех трех группах маршрутов автобусов видовое разнообразие микробиоценозов, оцениваемое по индексу Шеннона, имеет относительно невысокое значение, поскольку их средой пребывания служит техногенный объект, а не природный биотоп. Тем не менее, следует подчеркнуть, что выявленные микробные сообщества подчиняются тем же экологическим закономерностям, что и природные микробиоценозы: увеличение видового разнообразия микробиоты сопровождается закономерным снижением доминирования (индекс Симпсона) и возрастанием выравнимости (индекс Пиелу) (табл. 2).

В завершение анализа экологической структуры микробиоценоза общественного автотранспорта Нижнего Новгорода было проанализировано видовое сходство микробиоценозов исходя из доминантных по численности видов микроорганизмов. Установлено, что согласно вычисленному значению индекса биотической дисперсии Коха оно составляет всего 14 %, поскольку в трех модельных группах автобусных маршрутов был выделен только один общий вид *A. lwoffii* (рисунок).

Результаты, полученные в ходе данного исследования, с одной стороны, не противостоят данным, полученным при метагеномных исследованиях микробиома метрополитена: в микробиоценозах салонов автобусов нами также обнаружены представители микробиоты человека и почвенные микроорганизмы. Однако, по данным Афшинеко И., Клименко Н., Тяхт А. и др. [17, 19], в структуре микробиоценозов метрополитенов Нью-Йорка и Москвы преобладающими были виды микроорганизмов

Таблица 2. Значения экологических индексов, описывающих видовую структуру микробиоценозов автобусов муниципальных маршрутов регулярных пассажирских перевозок Нижнего Новгорода

Table 2. Characteristics of the species structure of microbiocenoses of city buses in Nizhny Novgorod

Показатели / Indicators	Группы маршрутов / Route groups		
	«межрайонная» / «interdistrict»	«заречная» / «zarechnaya»	«нагорная» / «nagornaya»
Количество исследованных проб / Number of samples	24	10	7
Общее микробное число, в КОЕ/см ³ / Total microbial count, CFU/cm ³	$19,8 \times 10^6$	$13,2 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$
Видовое богатство / Species richness	66	30	34
Индекс видового богатства Маргалефа / Margalef Species Richness Index	3,86	1,77	2,37
Индекс видового разнообразия Шеннона / Shannon Species Diversity Index	1,95	1,34	1,88
Индекс доминирования Симпсона / Simpson Dominance Index	0,21	0,37	0,31
Индекс выравнимости Пиелу / Pielou Evenness Index	0,46	0,39	0,53

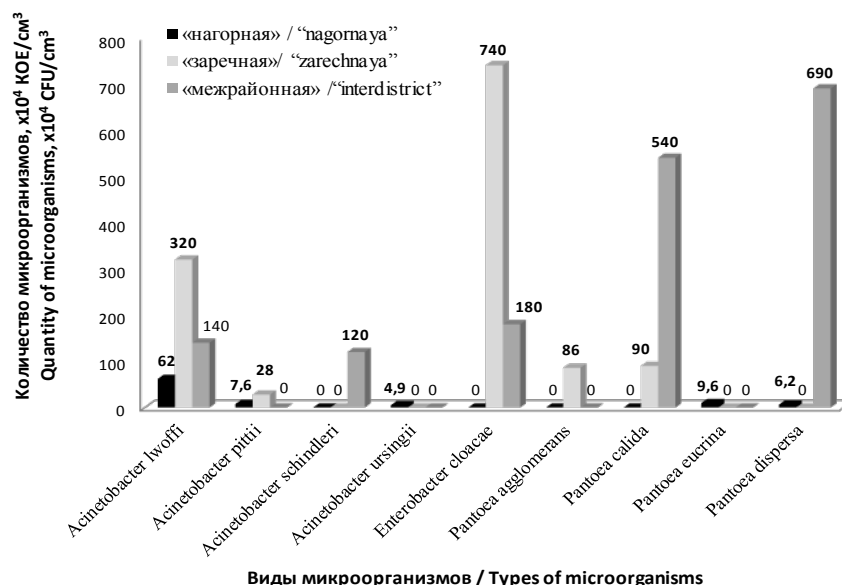


Рисунок. Доминантные по численности виды микроорганизмов, выделенные в трех модельных группах («нагорная», «заречная», «межрайонная») маршрутов Нижнего Новгорода

Figure. Dominant species of microorganisms identified in three groups ("Nagornaya" (Upland), "Zarechnaya" (Transverse), and "Interdistrict") of bus routes in the city of Nizhny Novgorod

внешней среды, тогда как в нашем случае по численности и по представленности видов в структуре микробного сообщества в автобусах всех трех групп маршрутов лидируют представители микробиоты человека. Это можно объяснить тем, что в нашем эксперименте мы не отбирали образцы с пола общественного автотранспорта, как делали другие исследователи. Кроме того, мы целенаправленно обращали внимание именно на те поверхности салона автобусов, с которыми пассажиры контактируют непосредственно, прикасаясь открытыми участками тела — ладонями. В данном случае нас больше интересовала численность условно-патогенных микроорганизмов, представляющих опасность для здоровья человека, нежели видовая представленность непатогенных представителей микробных сообществ внешней среды.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования микробных ценозов общественного транспорта, выполняющего рейсы по нагорным, заречным и межрайонным маршрутам, показали, что на обивках сидений, поручнях, местах оплаты проезда скапливается значительное число (85) видов микроорганизмов — представителей микробиоты кожи, желудочно-кишечного тракта и внешней среды, при этом среди общих видов в трех группах маршрутов представители микробиоты человека составляют 60 % от всех выделенных видов. Среди выделенных бактерий обнаружены патогенные виды, такие как *Salmonella spp.*, а также условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать пищевые токсикоинфекции и инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *Acinetobacter spp.*, в том числе *A. baumannii*, причем выделяются эти микроорганизмы в количествах 10^3 – 10^4 КОЕ/см³. Преобладающими по численности (доминирующими) видами являются также представители микробиоты различных биотопов человека, их численность достигает $6,9 \times 10^6$ КОЕ/см³.

Наибольшее видовое разнообразие обнаружено в микробных ценозах автобусов межрайонных маршрутов. Среди доминантных видов в трех группах маршрутов общим является вид *Acinetobacter lwoffii*, представители которого обнаруживаются в количестве до $5,3 \times 10^6$ КОЕ/см³. Полученные результаты подтверждают, что общественный транспорт вносит свой вклад в циркуляцию патогенных и условно-патогенных для человека микроорганизмов, выступая одновременно в качестве временного резервуара и фактора передачи инфекционных агентов. Это свидетельствует о необходимости разработки методических документов, нормирующих показатели микробного загрязнения на общедоступных поверхностях салонов автобусов, осуществляющих пассажирские перевозки, и методических указаний по контролю эффективности проводимой дезинфекции общественного пассажирского автотранспорта.

Информация о вкладе авторов: И.В. Белова — обзор публикаций по теме, обобщение результатов, написание текста рукописи; А.Г. Тоцилина — анализ полученных данных масс-спектрометрии, написание текста рукописи; И.В. Соловьева — анализ результатов бактериологического анализа, обобщение данных; Д.Б. Гелашвили — синэкологический анализ данных; Н.И. Зазнобина — отбор проб и расчет экологических индексов; В.А. Жирнов — получение данных для анализа (проведение масс-спектрометрии); С.Б. Молодцова — получение данных для анализа (проведение бактериологических исследований).

Финансирование: исследование проводилось в рамках целевой научно-исследовательской программы 2016–2020 «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями», тема НИР № гос. регистрации АААА-А16-116040810137-8.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы (пп. 2–9, 15, 17–26 см. References)

1. Белов А.Б., Куликалова Е.С. Сапронозы: экология возбудителей, эпидемиология, терминология и систематика // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016.

- № 15 (1). С. 5–16. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-5-16>
10. Брусина Е.Б., Рычагов И.П. Эпидемиология внутрибольничных гнойно-септических инфекций в хирургии. Новосибирск: Наука, 2006. 169 с.
 11. Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Саппо С.Г., Миронова Л.В., Марков Е.Ю., Мальник В.В. и др. Биопленка холерного вибриона: получение, характеристика и роль в резервации возбудителя в водной окружающей среде // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2015. № 1. С. 3–11.
 12. Андриюков Б.Г., Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф. Эволюция понятия сапронозы и трансформация экологической концепции паразитизма в инфектологии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017. № 5. С. 119–126. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-119-126>
 13. Белов А.Б. Экологические аспекты эпидемиологического надзора за внутрибольничными инфекциями // Сепсис. Вопросы клинической патофизиологии, эпидемиологии, диагностики и интенсивной терапии: материалы межрегиональной научно-практической конференции. Кемерово: Изд-во Кузбассвуиздат, 2006. С. 18–27.
 14. Брусина Е.Б. Эпидемиология инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных возбудителями группы сапронозов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2015. Т. 14. № 2. С. 50–56. doi: <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2015-14-2>.
 16. Тихонов В.В., Николаева О.В., Пильгун П.А. Оценка численности микроорганизмов в воздухе общественного транспорта Москвы в зимний период // Городские исследования и практики. 2018. Т. 3. № 3. С. 36–47. doi: <https://doi.org/10.17323/usp33201836-47>
 1. Belov AB, Kulikalova ES. Sapronoses: ecology of infection agents, epidemiology, terminology and classification. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2016;15(1):5–16. (In Russian). doi: [10.31631/2073-3046-2016-15-1-5-16](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2016-15-1-5-16)
 2. Hubálek Z. Emerging human infectious diseases: anthroponoses, zoonoses, and sapronoses. *Emerg Infect Dis*. 2003;9(3):403–404. doi: [10.3201/eid0903.020208](https://doi.org/10.3201/eid0903.020208)
 3. Hubálek Z, Rudolf I. *Microbial Zoonoses and Sapronoses*. Dordrecht: Springer Publ, 2011. doi: [10.1007/978-90-481-9657-9](https://doi.org/10.1007/978-90-481-9657-9)
 4. Kuris AM, Lafferty KD, Sokolow SH. Sapronosis: a distinctive type of infectious agent. *Trends Parasitol*. 2014;30(8):386–393. doi: [10.1016/j.pt.2014.06.006](https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.06.006)
 5. Xu B, Hao J. Air quality inside subway metro indoor environment worldwide: A review. *Environ Int*. 2017;107:33–46. doi: [10.1016/j.envint.2017.06.016](https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.06.016)
 6. Fujiyoshi S, Tanaka D, Maruyama F. Transmission of airborne bacteria across built environments and its measurement standards: A review. *Front Microbiol*. 2017;8:2336. doi: [10.3389/fmicb.2017.02336](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02336)
 7. Dybwad M, Granum PE, Bruheim P, Blatny JM. Characterization of airborne bacteria at an underground subway station. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78(6):1917–1929. doi: [10.1128/AEM.07212-11](https://doi.org/10.1128/AEM.07212-11)
 8. Hsu T, Joice R, Vallarino J, Abu-Ali G, Hartmann EM, Shafquat A, et al. Urban transit system microbial communities differ by surface type and interaction with humans and the environment. *mSystems*. 2016;1(3):e00018–16. doi: [10.1128/mSystems.00018-16](https://doi.org/10.1128/mSystems.00018-16)
 9. Hospodsky D, Qian J, Nazaroff WW, Yamamoto N, Bibby K, Rismani-Yazdi H, et al. Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. *PLoS One*. 2012;7(4):e34867. doi: [10.1371/journal.pone.0034867](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034867)
 10. Brusina EB, Ryichagov IP. [Epidemiology of In-hospital Septic Infection in Surgery]. Novosibirsk: Nauka Publ., 2006. (In Russian).
 11. Kulikalova ES, Urbanovich LYa, Sappo SG, Mironova LV, Markov EYu, Mal'nik VV. Cholera vibrio biofilm: production, characterization and role in reservation of causative agent in water environment. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2015;(1):3–11. (In Russian).
 12. Andryukov BG, Somova LM, Timchenko NF. Evolution of the sapronosis notion and transformation of the environmental concept of parasitism in infectology. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2017;(5):119–126. doi: [10.36233/0372-9311-2017-5-119-126](https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-119-126)
 13. Belov AB. [Environmental aspects of epidemiological surveillance of hospital infections]. In: *Sepsis. Issues of Clinical Pathophysiology, Epidemiology, diagnosis and intensive Care: Proceeding of the Interregional Scientific and Practical Conference*. Kemerovo: Kuzbassvuzizdat Publ., 2006:18–27. (In Russian).
 14. Brusina EB. Epidemiology of healthcare-associated infection, caused by sapronoses group pathogens. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2015;14(2):50–56. (In Russian). doi: [10.31631/2073-3046-2015-14-2](https://doi.org/10.31631/2073-3046-2015-14-2)
 15. Conceição T, Diamantino F, Coelho C, Aires-de-Sousa M. Contamination of public buses with MRSA in Lisbon, Portugal: a possible transmission route of major MRSA clones within the community. *PLoS One*. 2013;8(11):e77812. doi: [10.1371/journal.pone.0077812](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077812)
 16. Tikhonov VV, Nikolaeva OV, Pilgun PA. Quantity of airborne microorganisms in public transport of Moscow in winter period. *Gorodskie Issledovaniya i Praktiki*. 2018;3(3):36–47. (In Russian). doi: [10.17323/usp33201836-47](https://doi.org/10.17323/usp33201836-47)
 17. Afshinnikoo E, Meydan C, Chowdhury S, Jaroudi D, Boyer C, Bernstein N, et al. Geospatial resolution of human and bacterial diversity with city-scale metagenomics. *Cell Syst*. 2015;1(1):72–87. doi: [10.1016/j.cels.2015.01.001](https://doi.org/10.1016/j.cels.2015.01.001)
 18. The MetaSUB International Consortium, Mason C, Afshinnikoo E, Ahsannudin S, Ghedin E, Read T, Fraser C, et al. The Metagenomics and Metadesign of the Subways and Urban Biomes (MetaSUB) International Consortium inaugural meeting report. *Microbiome*. 2016;4(24):1–14. doi: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0168-z>
 19. Klimenko NS, Tyakht AV, Toshchakov SV, Shevchenko MA, Korzhnikov AA, Afshinnikoo E et al. Co-occurrence patterns of bacteria within microbiome of Moscow subway. *Comput Struct Biotechnol J*. 2020;18:314–322. doi: [10.1016/j.csbj.2020.01.007](https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.01.007)
 20. Garza DR, Dutilh BE. From cultured to uncultured genome sequences: metagenomics and modeling microbial ecosystems. *Cell Mol Life Sci*. 2015;72(22):4287–308. doi: [10.1007/s00018-015-2004-1](https://doi.org/10.1007/s00018-015-2004-1)
 21. Neelakanta G, Sultana H. The use of metagenomic approaches to analyze changes in microbial communities. *Microbiol Insights*. 2013;6:37–48. doi: [10.4137/MBI.S10819](https://doi.org/10.4137/MBI.S10819)
 22. Robertson CE, Baumgartner LK, Harris JK, Peterson KL, Stevens MJ, Frank DN, et al. Culture-independent analysis of aerosol microbiology in a metropolitan subway system. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(11):3485–93. doi: [10.1128/AEM.00331-13](https://doi.org/10.1128/AEM.00331-13)
 23. Dingle TC, Butler-Wu SM. MALDI-TOF mass spectrometry for microorganism identification. *Clin Lab Med*. 2013;33(3):589–609. doi: [10.1016/j.cll.2013.03.001](https://doi.org/10.1016/j.cll.2013.03.001)
 24. Singhal N, Kumar M, Kanaujia PK, Virdi JS. MALDI-TOF mass spectrometry: an emerging technology for microbial identification and diagnosis. *Front Microbiol*. 2015;6:791. doi: [10.3389/fmicb.2015.00791](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00791)
 25. Li Y, Shan M, Zhu Z, Mao X, Yan M, Chen Y, et al. Application of MALDI-TOF MS to rapid identification of anaerobic bacteria. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):941. doi: [10.1186/s12879-019-4584-0](https://doi.org/10.1186/s12879-019-4584-0)
 26. Strejcek M, Smrhova T, Junkova P, Uhlik O. Whole-cell MALDI-TOF MS versus 16S rRNA gene analysis for identification and dereplication of recurrent bacterial isolates. *Front Microbiol*. 2018;9:1294. doi: [10.3389/fmicb.2018.01294](https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01294)