

Влияние состава питательной среды на прирост биомассы и синтез противомикробных метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*

С.А.Лазарев, В.Г.Арзуманян, Н.А.Михайлова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова», Москва, Российская Федерация

Перспективными продуцентами противомикробных субстанций являются пробиотические штаммы *Bacillus subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3H, проявляющие высокую антагонистическую активность к условно-патогенным микроорганизмам. Известно, что оптимальный состав питательной среды определяет биосинтетическую активность культивируемых штаммов и способствует максимальному накоплению вторичных метаболитов. В данной работе проведена сравнительная оценка влияния основных источников питания (белкового и углеводного) на ростовые и функциональные свойства пробиотических штаммов *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3H. В результате проведенных экспериментов составлена рецептура оптимальной питательной среды, обеспечивающая наибольший выход биомассы и максимальную противомикробную активность вторичных метаболитов исследуемых культур.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, вторичные метаболиты, противомикробная активность

Для цитирования: Лазарев С.А., Арзуманян В.Г., Михайлова Н.А. Влияние состава питательной среды на прирост биомассы и синтез противомикробных метаболитов пробиотических штаммов *Bacillus subtilis*. Бактериология. 2021; 6(2): 38–42. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-38-42

Influence of nutrient medium composition on biomass growth and antimicrobial metabolites synthesis of *Bacillus subtilis* probiotic strains

S.A.Lazarev, V.G.Arzumanyan, N.A.Mikhailova

I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums, Moscow, Russian Federation

Probiotic strains *Bacillus subtilis* 1719 and *B. subtilis* 3H, which exhibit high antagonistic activity against opportunistic microorganisms, are promising producers of antimicrobial substances. It is known that the optimal composition of the nutrient medium determines the biosynthetic activity of cultivated strains and promotes the maximum accumulation of secondary metabolites. A comparative assessment of the influence of the main food sources (protein and carbohydrate) on the growth and functional properties of the probiotic strains *B. subtilis* 1719 and *B. subtilis* 3H is carried out in this work. As a result of the experiments, the formulation of the optimal nutrient medium was compiled, which provides the highest biomass yield and the maximum antimicrobial activity of the secondary metabolites of the studied cultures.

Key words: *Bacillus subtilis*, secondary metabolites, antimicrobial activity

For citation: Lazarev S.A., Arzumanyan V.G., Mikhailova N.A. Influence of nutrient medium composition on biomass growth and antimicrobial metabolites synthesis of *Bacillus subtilis* probiotic strains. Bacteriology. 2021; 6(2): 38–42. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-38-42

Антибиотикорезистентность возбудителей инфекционных болезней представляет собой актуальную проблему современной медицины. По данным Всемирной организации здравоохранения, она является одной из десяти стоящих перед человечеством глобальных угроз здоровью населения. Одним из основных направлений решения проблемы является изучение и разработка альтернативных подходов к

лечению и профилактике инфекционных заболеваний [1]. В этом аспекте вызывают интерес микроорганизмы рода *Bacillus*.

Род *Bacillus* представляют грамположительные, палочковидные, спорообразующие, аэробные или факультативно-анаэробные бактерии. Большинство бацилл (кроме *B. anthracis* и *B. cereus*) не опасны для человека. Наиболее

Для корреспонденции:

Лазарев Сергей Александрович, аспирант, младший научный сотрудник ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 916-2587
E-mail: lazarevsr1@gmail.com

Статья поступила 26.08.2021 г., принята к печати 30.08.2021 г.

For correspondence:

Sergey A. Lazarev, postgraduate student, Junior Researcher, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums

Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 916-2587
E-mail: lazarevsr1@gmail.com

The article was received 26.08.2021, accepted for publication 30.08.2021

изученным и широко распространенным в окружающей среде является вид *B. subtilis*.

Многие виды рода *Bacillus* демонстрируют широкий спектр физиологических способностей, которые позволяют им жить в различных экологических нишах. В научной литературе описано большое количество биологически активных метаболитов, синтезируемых в процессе жизнедеятельности этих бактерий. К ним относятся ферменты различных классов, антибиотикоподобные вещества, аминокислоты, полисахариды и прочие [2, 3]. Благодаря этим свойствам бактерии рода *Bacillus* активно применяются в медицине и ветеринарии в качестве пробиотиков, а также в промышленности в качестве штаммов-продуцентов.

Бактериоцинные антибиотики (бацитрацин, грамицидин, колистин, полимиксин), разработанные на основе производных бациллярных штаммов, демонстрируют высокую противомикробную активность и безопасность. Важным их преимуществом является активность в отношении возбудителей инфекций, устойчивых к классическим антибиотикам [4]. Однако спектр препаратов, необходимых для терапии различных инфекционных болезней и осложнений, оставляет желать большего, особенно с учетом необходимости персонализированной терапии.

Известны пробиотические штаммы *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3Н, проявляющие высокую антагонистическую активность в отношении условно-патогенных микроорганизмов [5, 6]. Изучение синтеза и состава вторичных метаболитов, получаемых в зависимости от условий культивирования этих культур, может послужить дальнейшему поиску и выделению новых биологически активных веществ, а также их использованию в качестве основ пробиотических препаратов нового поколения (постбиотики, метабиотики), предназначенных для лечения и профилактики различных заболеваний.

Известно, что состав питательной среды определяет биосинтетическую активность культивируемых штаммов, выбор метода очистки целевых продуктов и изучение их терапевтических свойств.

Цель работы: оптимизировать состав питательной среды культивирования штаммов *B. subtilis* 3Н и *B. subtilis* 1719 для максимального накопления биомассы и вторичных метаболитов, обладающих противомикробной активностью.

Материалы и методы

В работе использовали бациллярные штаммы *B. subtilis* 3Н и *B. subtilis* 1719, а также тест-штаммы *Staphylococcus aureus* FDA 209P, *S. aureus* 29213, *Proteus mirabilis* 24a, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* 927 из коллекции ФГБНУ НИИВС им. И.И.Мечникова.

Культивирование проводили на следующих питательных средах:

Среда №9 (г/л): FeSO₄·7H₂O – 0,01 («Реахим», Россия); MgSO₄·7H₂O – 0,1 («Реахим», Россия); MnCl₂ – 0,01 («Лабтех», Россия); CaCl₂ («Лаверна», Россия) – 0,08; пептон – 5,0 (HiMedia, Индия); глюкоза – 10,0 (PanReac Applichem, Испания/Германия); дрожжевой экстракт – 3,0 (HiMedia, Индия); pH 7,3.

Среда №5 (г/л): K₂HPO₄·3H₂O – 0,3 («Лабтех», Россия); NH₄H₂PO₄ – 2,0 («Мосреактив», Россия); Na₃C₆H₅O₇·5,5H₂O –

2,0 («Лаверна», Россия); CuSO₄·5H₂O – 0,005 («Химмед», Россия); ZnSO₄·7H₂O – 0,004 («Химмед», Россия); FeSO₄·7H₂O – 0,0005 («Реахим», Россия); CaCl₂ – 0,165 («Лаверна», Россия); MnSO₄·5H₂O – 0,05 («Реахим», Россия); MgSO₄·7H₂O – 0,3 («Реахим», Россия); пептон – 5,0 (HiMedia, Индия); pH 7,3.

LB-бульон (г/л): триптон – 10,0 (HiMedia, Индия); дрожжевой экстракт – 5,0 (HiMedia, Индия); NaCl – 10,0 (Sigma, США).

Среда Гаузе №2 (г/л): триптон – 2,5 (HiMedia, Индия); пептон – 5 (HiMedia, Индия); NaCl – 5 (Sigma, США); глюкоза – 10 (PanReac Applichem, Испания/Германия); pH 7,2.

Ампулы с лиофилизированными штаммами *B. subtilis* вскрывали и подращивали на питательном бульоне в течение 4–5 ч, далее высевали на агаризованную среду №9 и инкубировали в термостате в течение 18 ч при температуре 37°C. Затем смывали полученную биомассу и готовили посевную дозу для обеих культур с концентрацией 1 × 10⁹ кл/мл. Штаммы *B. subtilis* выращивали методом глубинного периодического культивирования в колбах Эрленмейера в шейкере-инкубаторе BioSan es-20 при температуре 37°C и перемешивании 220 об./мин в течение 24 ч.

Концентрацию микробных клеток в 1 мл определяли, используя отраслевой стандартный образец мутности (ОСО) на 10 Ед.

Культуральные фильтраты, содержащие вторичные метаболиты, получали центрифугированием выращенной биомассы бацилл со скоростью 8000 об./мин в течение 30 мин с последующей микрофильтрацией супернатантов.

Для изучения противомикробной активности к аликватам фильтратов *B. subtilis* добавляли суспензии клеток тест-штаммов с концентраций 1 × 10⁸ кл/мл. В качестве контроля использовали физиологический раствор. Тест-штаммы инкубировали при температуре 32°C в течение 2 ч в условиях перемешивания. Далее клетки отделяли центрифугированием, супернатанты удаляли, а к осадкам добавляли раствор бромкрезолового пурпурного в фосфатном буфере pH 4,6. Смесь суспендировали и инкубировали при температуре 32°C в течение 45 мин в условиях перемешивания. Затем суспензии центрифугировали и по 50 мкл полученных супернатантов добавляли в заранее подготовленные пробирки, содержащие по 2,5 мл фосфатного буфера pH 4,6. Полученные растворы перемешивали и измеряли оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 440 нм в кюветах 1 см. Из трех измерений для каждой пробы вычисляли среднее значение оптической плотности, затем производили расчет по формуле:

$$A = (OP_{\text{контр.}} - OP_{\text{опыт.}}) \times 100 / OP_{\text{контр.}}$$

где A – противомикробная активность, выраженная в процентах; OP_{контр.} – оптическая плотность смеси из контрольной пробирки; OP_{опыт.} – оптическая плотность смеси из опытной пробирки [7].

Статистический анализ проводили с помощью программы Microsoft Excel. Достоверность различий между сравниваемыми величинами определяли по критерию Манна–Уитни.

Результаты и обсуждение

В качестве источников азота были оценены различные варианты гидролизатов: триптон, пептон и панкреатический

гидролизат казеина (ПГК). Для этого на основе картофельно-глюкозного бульона готовили 1%-й раствор каждого компонента и изучали их влияние на ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* (табл. 1, 2).

Как видно из табл. 1, различия в приросте биомассы у штаммов *B. subtilis* при культивировании с триптоном или пептоном были незначительны ($p > 0,05$). ПГК оказывал слабое действие на прирост биомассы обоих штаммов. Однако противомикробная активность не соответствовала количеству выросших клеток. Из табл. 2 следует, что при выращивании штамма *B. subtilis* 1719 на среде с триптоном полученные метаболиты проявляли более высокую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* FDA 209P, *S. aureus* 29213 и *C. albicans* 927 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 1719 на среде с пептоном. При этом противомикробного действия на тест-штаммы *P. mirabilis* 24a и *E. coli* ATCC 25922 не выявлено. При культивировании *B. subtilis* 1719 на среде с ПГК противомикробная активность отсутствовала по отношению ко всем тест-штаммам. Метаболиты штамма *B. subtilis* 3Н, полученные при выращивании на среде с триптоном, проявляли более высокую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* 29213, *P. mirabilis* 24a и *C. albicans* 927 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 3Н на среде с пептоном. Различия активности в отношении тест-штамма *S. aureus* FDA 209P были незначительны ($p > 0,05$). Противомикробное действие на тест-штамм *E. coli* ATCC 25922 отсутствовало. При выращивании штамма *B. subtilis* 3Н с ПГК полученные метаболиты оказывали более низкую противомикробную активность в отношении тест-штаммов *S. aureus* FDA 209P и *S. aureus* 29213 в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании *B. subtilis* 3Н на среде с триптоном. Активность в отношении тест-штаммов *P. mirabilis* 24a, *E. coli* ATCC 25922 и *C. albicans* 927 при этом отсутствовала. Исходя из полученных данных, триптон был выбран в качестве перспективного компонента питательной среды.

Таблица 1. Влияние гидролизатов на прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis*

Гидролизаты	Биомасса в стационарной фазе роста $\times 10^9$ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Триптон	8 \pm 3	9 \pm 3
Пептон	8 \pm 2	9 \pm 3
ПГК	6 \pm 2*	5 \pm 2*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с триптоном.

Далее исследовали влияние различных углеводов на ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* (табл. 3, 4).

Из полученных данных следует, что добавление углеводов приводило к увеличению ростовой и функциональной активностей исследуемых штаммов. Глюкоза оказывала наибольшее стимулирующее действие на прирост биомассы штамма *B. subtilis* 1719 в сравнении с другими углеводами. При выращивании штамма *B. subtilis* 3Н лучшие результаты наблюдались на средах, содержащих глюкозу или мальтозу. Различия в приросте биомассы между ними были незначительны ($p > 0,05$). Другие углеводы оказывали меньшее стимулирующее действие. При выращивании штамма *B. subtilis* 1719 с добавлением глюкозы противомикробная активность метаболитов проявлялась по отношению ко всем тест-штаммам и была выше в сравнении с метаболитами, полученными при культивировании с остальными углеводами. У метаболитов *B. subtilis* 3Н противомикробное действие проявлялось по отношению ко всем тест-штаммам при выращивании на средах с добавлением глюкозы или мальтозы. Различия в противомикробной активности между ними оказались незначительными ($p > 0,05$). Установлено также, что увеличение концентрации глюкозы в питательной среде более 1% негативно сказывалось на ростовой и функциональной активности исследуемых штаммов. На основе полученных результатов глюкоза была включена в состав оптимизированной питательной среды.

После оптимизации питательной среды по основным источникам питания (белкового и углеводного) подбор других компонентов и их концентраций осуществляли на основании анализа питательных сред, рекомендованных для культивирования бактерий рода *Bacillus*. Для обеспечения нормального энергетического обмена в клетках, а также биосинтетических процессов в питательную среду добавляли фосфорнокислый калий (K_2HPO_4). В качестве источников витаминов (особенно группы В) служил дрожжевой экстракт. В качестве источников необходимых микроэлементов, используемых для обеспечения роста и развития штаммов *B. subtilis*, были добавлены следующие неорганические вещества: FeSO_4 , MgSO_4 , MnSO_4 , NaCl , CaCl_2 . Исходя из полученных данных, была составлена рецептура оптимальной питательной среды (табл. 5).

Далее на подобранной питательной среде изучали ростовую и функциональную активности штаммов *B. subtilis* в сравнении с питательными средами, которые используются для выращивания споровых пробиотиков (табл. 6, 7).

Таблица 2. Влияние промышленных гидролизатов на противомикробную активность метаболитов *B. subtilis*

Тест-штаммы	Противомикробная активность, %					
	<i>B. subtilis</i> 1719			<i>B. subtilis</i> 3Н		
	триптон	пептон	ПГК	триптон	пептон	ПГК
<i>S. aureus</i> FDA 209P	22,2 \pm 2,3	13,7 \pm 1,9*	0*	19,5 \pm 2,1	17,5 \pm 2,3	5,7 \pm 1,4*
<i>S. aureus</i> 29213	18,7 \pm 1,8	6,6 \pm 1,6*	0*	18,2 \pm 2,2	14,7 \pm 1,9*	5,4 \pm 1,5*
<i>P. mirabilis</i> 24a	0	0	0	9,8 \pm 1,4	5,3 \pm 1,7*	0*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0	0	0	0	0	0
<i>C. albicans</i> 927	8,5 \pm 1,2	0*	0*	11,1 \pm 1,3	0*	0*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с триптоном.

Таблица 3. Влияние углеводов на прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis*

Углеводы	Биомасса в стационарной фазе роста × 10 ⁹ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Глюкоза	18 ± 3	16 ± 2
Лактоза	8 ± 2*	6 ± 2*
Мальтоза	9 ± 2*	14 ± 3
Крахмал	12 ± 3*	10 ± 3*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с глюкозой.

Таблица 4. Влияние углеводов на противомикробную активность метаболитов штаммов *B. subtilis*

Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 1719, %			
	глюкоза	лактоза	мальтоза	крахмал
<i>S. aureus</i> FDA 209P	38,2 ± 2,4	22,1 ± 2,1*	23,2 ± 2,2*	21,1 ± 2,3*
<i>S. aureus</i> 29213	34,3 ± 2,7	18,7 ± 1,8*	17,1 ± 2,1*	16,4 ± 2,4*
<i>P. mirabilis</i> 24a	11,9 ± 1,9	0*	0*	6,7 ± 1,8*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13,9 ± 2,8	0*	0*	0*
<i>C. albicans</i> 927	28,3 ± 2,5	17,4 ± 1,7*	16,5 ± 2,4*	16,6 ± 2,8*
	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 3Н, %			
<i>S. aureus</i> FDA 209P	33,7 ± 2,7	19,8 ± 2,2*	28,6 ± 3,1	25,1 ± 1,7*
<i>S. aureus</i> 29213	30,1 ± 2,2	21,1 ± 1,8*	29,8 ± 2,8	24,7 ± 2,2*
<i>P. mirabilis</i> 24a	17,9 ± 2,9	10,4 ± 2,3*	15,2 ± 2,4	9,1 ± 2,1*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	11,7 ± 2,8	0*	10,1 ± 2,8	0*
<i>C. albicans</i> 927	32,1 ± 3,1	0*	28,3 ± 2,1	0*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с глюкозой.

Из данных табл. 6, 7 следует, что оптимизированная питательная среда обеспечивала наибольший выход биомассы и синтез вторичных метаболитов, обладающих противомикробной активностью, у исследуемых штаммов *B. subtilis* в сравнении с другими питательными средами, применяемыми в производстве споровых пробиотиков. На рисунке для примера представлено противомикробное действие метаболитов *B. subtilis* 3Н, полученных при культивировании на оптимальной питательной среде, на штамм *C. albicans* 927 в сравнении с контролем.

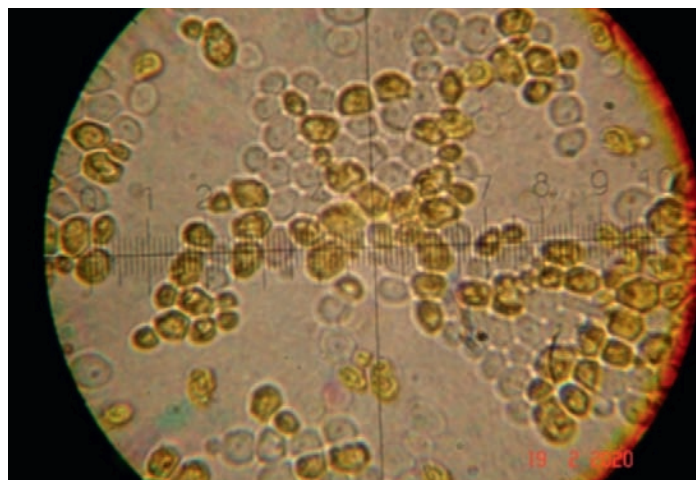


Таблица 5. Состав оптимальной питательной среды

Компонент питательной среды	Масса, г/л
Глюкоза безводная	10
Триптон	10
Дрожжевой экстракт	3
Калий фосфорнокислый 2-замещенный 3-водный	0,5
Железо сернокислое 7-водное	0,01
Магний сернокислый 7-водный	0,1
Марганец сернокислый 5-водный	0,03
Натрий хлористый	1
Кальций хлористый	0,2
рН = 7–7,2	

Таблица 6. Прирост биомассы в стационарной фазе культивирования штаммов *B. subtilis* на разных средах

Среды	Биомасса в стационарной фазе роста × 10 ⁹ кл./мл	
	<i>B. subtilis</i> 1719	<i>B. subtilis</i> 3Н
Оптимальная	26 ± 4	22 ± 3
N9	18 ± 3*	15 ± 3*
N5	8 ± 3*	7 ± 3*
LB	6 ± 2*	7 ± 2*
Гаузе №2	16 ± 4*	14 ± 3*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с оптимальной питательной средой.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных экспериментов составлена рецептура оптимальной питательной среды для культивирования пробиотических штаммов *B. subtilis* 1719 и *B. subtilis* 3Н, обеспечивающая наибольший выход биомассы и противомикробную активность вторичных метаболитов.

Информация о финансировании

Бюджетное финансирование.

Financial support

Budget financing.

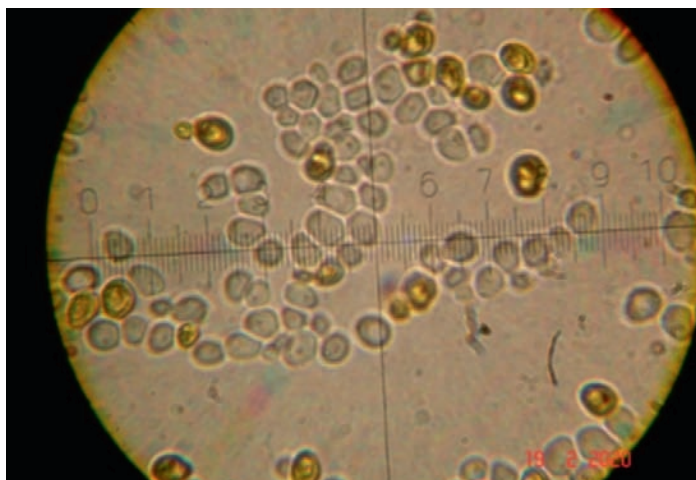


Рисунок. Действие метаболитов культуры *B. subtilis* 3Н, выращенной на оптимальной питательной среде, на клетки *C. albicans* 927: слева – опытный вариант (фильтрат), справа – контроль (физраствор); желтые клетки – мертвые, белые клетки – живые.

Таблица 7. Противомикробная активность метаболитов штаммов *B. subtilis* на разных средах

Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 1719 (%), выращенных на средах:				
	Оптимальная	N9	N5	LB	Гаузе №2
<i>S. aureus</i> FDA 209P	47,5 ± 3,2	33,9 ± 1,9*	23,7 ± 2,2*	14,4 ± 2,3*	28,9 ± 2,6*
<i>S. aureus</i> 29213	48,6 ± 2,8	29,7 ± 2,2*	25,3 ± 1,7*	12,4 ± 1,6*	27,6 ± 2,9*
<i>P. mirabilis</i> 24a	29,9 ± 2,7	10,8 ± 2,3*	0*	0*	7,5 ± 1,6*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	26,6 ± 3,1	0*	0*	0*	6,5 ± 2,1
<i>C. albicans</i> 927	38,9 ± 2,2	18,1 ± 1,9*	9,8 ± 1,8*	0*	19,1 ± 2,3*
Тест-штаммы	Противомикробная активность <i>B. subtilis</i> 3Н, %				
	оптимальная	N9	N5	LB	Гаузе №2
<i>S. aureus</i> FDA 209P	53,3 ± 3,1	35,5 ± 1,3*	20,2 ± 2,9*	16,4 ± 2,4*	30,2 ± 3,2*
<i>S. aureus</i> 29213	50,5 ± 2,8	32,4 ± 3,1*	21,2 ± 2,4*	14,7 ± 2,7*	25,9 ± 2,6*
<i>P. mirabilis</i> 24a	36,3 ± 2,6	24,6 ± 2,6*	9,1 ± 1,8*	0*	19,3 ± 2,1*
<i>E. coli</i> ATCC 25922	39,8 ± 3,2	19,9 ± 2,4*	0*	0*	25,6 ± 2,2*
<i>C. albicans</i> 927	54,1 ± 1,9	38,1 ± 2,2*	11,8 ± 2,2*	0*	21,3 ± 2,5*

* $p \leq 0,01$ – достоверность различий по сравнению с оптимальной питательной средой.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Venter H, Henningsen ML, Begg SL. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem.* 2017 Mar 3;61(1):1-10. DOI: 10.1042/EBC20160053
- Михайлова НА, Гринько ОМ. Бактерии рода *Bacillus* – продуценты биологически активных веществ антимикробного действия. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2010;3:85-89.
- Забокрицкий НА. Биологически активные вещества, синтезируемые пробиотическими микроорганизмами родов *Bacillus* и *Lactobacillus*. *Здоровье и образование в XXI веке.* 2015;17(3):80-90.
- Тагиева СА, Гахраманова ФХ. Преимущества применения бактериоцидных препаратов по сравнению с химическими антибиотиками для лечения инфекций у человека и животных. (Обзор). *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2020;4:122-128.
- Михайлова НА, Кузнецова ТН, Кунягина ОВ. Штамм бактерий *Bacillus subtilis*, несущий свойство антибиотикорезистентности, используемый для получения препарата «Бактиспорин». Патент РФ №2067616. 10.10.1996.
- Михайлова НА, Гатауллин АГ. Штамм бактерий *Bacillus subtilis* 1719 – продуцент антагонистически активной биомассы в отношении болезнетворных микроорганизмов, а также протеолитических, амилолитических и липолитических ферментов. Патент РФ № 2298032. 27.04.2007.
- Арзуманян ВГ, Михайлова НА, Артемьева ТА, Бутовченко ЛМ, Вартанова НО, Ерофеева ТВ, Костин МП, Киселевский МВ, Полищук ВБ. Способ определения противомикробной активности цельной сыворотки и фракции ее антимикробных пептидов. Патент РФ № 2686337. 25.04.2019.

References

- Venter H, Henningsen ML, Begg SL. Antimicrobial resistance in healthcare, agriculture and the environment: the biochemistry behind the headlines. *Essays Biochem.* 2017 Mar 3;61(1):1-10. DOI: 10.1042/EBC20160053
- Mikhailova NA, Grin'ko OM. Bakterii roda *Bacillus* – produtsenty biologicheskii aktivnykh veshchestv antimikrobnogo deistviya. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 2010;3:85-89. (In Russian).

- Zabokritskiy NA. The biologically active substances produced probiotic microorganisms of the genera *Bacillus* and *Lactobacillus*. *Health and Education millennium.* 2015;17(3):80-90. (In Russian).
- Taghiyeva SA, Kahramanova FK. Advantages of the use of bacteriocines compared to chemical antibiotics for the treatment of infections in human and animals (review). *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2020;4:122-128. (In Russian).
- Mikhailova NA, Kuznetsova TN, Kuniyagina OV. Strain of bacteria *Bacillus subtilis*, bearing the property of antibiotic resistance, used to obtain the drug "Bactisporin". RF Patent No. 2067616. 10.10.1996. (In Russian).
- Mikhailova NA, Gataullin AG. Bacterial strain *Bacillus subtilis* 1719 is a producer of antagonistically active biomass against pathogens, as well as proteolytic, amyolytic and lipolytic enzymes. RF Patent No. 2298032. 27.04.2007. (In Russian).
- Arzumanyan VG, Mikhailova NA, Artemyeva TA, Butovchenko LM, Vartanova NO, Yerofeeva TV, Kostinov MP, Kiselevsky MV, Polishchuk VB. A method for determining the antimicrobial activity of whole serum and the fraction of its antimicrobial peptides. RF Patent No. 2686337. 25.04.2019. (In Russian).

Информация об авторах:

Арзуманян Вера Георгиевна, доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 917-0903
E-mail: veraar@mail.ru

Михайлова Наталья Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова»
Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, 5А
Телефон: (495) 916-2587
E-mail: n_mikhailova@inbox.ru

Information about authors:

Vera G. Arzumanyan, PhD, DSc (Biological Sciences), Professor, Head of the Laboratory of Physiology of Fungi and Bacteria, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums
Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 917-0903
E-mail: veraar@mail.ru

Natalya A. Mikhailova, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Protective Antigens, I.I.Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums
Address: 5A Maly Kazenny lane, Moscow, 105064, Russian Federation
Phone: (495) 916-2587
E-mail: n_mikhailova@inbox.ru