

УДК 576.8-093:579.8:636.592

ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИОЦИНА СУБТИЛОЗИНА И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ

Спиридонова П.Д.¹, Руденко А.А.², Баженова Ж.К.³, Похилenko В.Д.⁴,
Калмантаев Т.А.⁴, Чукина И.А.⁴

¹Группа компаний Черкизово ООО «Тамбовская индейка»

²Московский государственный университет пищевых производств

³ООО «Птицефабрика Акашевская»

⁴ФБУН ГНЦ Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии

Аннотация. Бактериоцин субтилозина П19, представляющий собой низкомолекулярный пептид, был получен из штамма *Bacillus subtilis* П19 природного происхождения. Синтез бактериоцина осуществлялся в условиях глубинного периодического культивирования штамма. Из культуральной жидкости его выделяли методом осаждения на клетках продуцента. Препарат для испытаний представлял собой сухой порошок, содержащий грубый бактериоцин с активностью 400 АЕ/мг, иммобилизованный на клетках штамма-продуцента.

Испытания эффективности опытного препарата бактериоцина проводили на площадке агрохолдинга ООО «Птицефабрика Акашевская» в Республике Марий-Эл. В эксперимент было взято 40 голов цыплят-бройлеров кросса «Arbor Acres». Цыплят индивидуально взвешивали и рассаживали в две клетки по 20 голов в каждую (контрольная и опытная группы). Условия содержания и корм соответствовали нормативам кросса. Цыплятам опытной группы добавляли в корм бактериоцин с первого по 30 день включительно. На 38 день бройлеров взвешивали, забивали, вскрывали, отбирали пробы внутренних органов для исследований на патологию, биохимию и микробиологию. Итоги испытаний показали, что применение бактериоцина субтилозина П19 в виде премикса увеличивало прирост живой массы цыплят, их сохранность и улучшало биохимические показатели крови.

Ключевые слова: бактериоцины; субтилозин; микроорганизмы; цыплята-бройлеры; выращивание

Для цитирования: Спиридонова П.Д., Руденко А.А., Баженова Ж.К., Похилenko В.Д., Калмантаев Т.А., Чукина И.А. ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИОЦИНА СУБТИЛОЗИНА И ОЦЕНКА ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ. Известия ГГТУ. Медицина. Фармация. 2023 г. №3. С. 35-41. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2023-3-15-35-41>.

Для корреспонденции: Похилenko Виктор Данилович, доктор тех. наук, стар.науч.сот ФБУН ГНЦ Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии, e-mail: vpokhil003@yandex.ru

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

OBTAINING BACTERIOCIN SUBTILOSIN AND ASSESSMENT OF ITS EFFECTIVENESS

Spiridonova P.D.¹, Rudenko A.A.², Bazhenova Zh.K.³, Pokhilenko V.D.⁴,
Kalmantaev T.A.⁴, Chukina I.A.⁴

¹Cherkizovo Group of Companies Tambov Turkey LLC

²Moscow State University of Food Production

³LLC «Akashevskaya Poultry Farm»

⁴FBUN State Scientific Center State Scientific Center for Applied Microbiology and
Biotechnology

Annotation. Subtilisin bacteriocin P19, a low molecular weight peptide, was obtained from the naturally occurring *Bacillus subtilis* P19 strain. The synthesis

of bacteriocin was carried out under conditions of deep periodic cultivation of the strain. It was isolated from the culture liquid by precipitation on the cells of the producer. The test drug was a dry powder containing a crude bacteriocin with an activity of 400 AE/mg, immobilized on the cells of the producer strain. Tests of the effectiveness of the experimental bacteriocin preparation were carried out at the site of the agricultural holding LLC Akashevskaya Poultry Farm in the Republic of Mari-El. The experiment involved 40 heads of Arbor Acres cross broiler chickens. The chickens were individually weighed and placed in two cages of 20 birds each (control and experimental groups). Housing conditions and food complied with cross-breeding standards. The chickens of the experimental group were supplemented with bacteriocin in their feed from the first to the 30th day inclusive. On day 38, broilers were weighed, slaughtered, dissected, and samples of internal organs were taken for pathology, biochemistry, and microbiology studies. The test results showed that the use of bacteriocin subtilosin P19 in the form of a premix increased the gain in live weight of chickens, their safety and improved biochemical blood parameters.

Keywords: bacteriocins; subtilosin; microorganisms; broiler chickens; cultivation

For citation: Spiridonova P.D., Rudenko A.A., Bazhenova Zh.K., Pokhilenko V.D.,

Kalmantaev T.A., Chukina I.A. Preparation of the bacteriocin subtilosin and evaluation of its effectiveness. *Izvestiya GGTU. Medicine, pharmacy*. 2023. №3. P. 35-41. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2023-3-15-35-41>.

For correspondence: Viktor Danilovich Pokhilenko, Doctor of Technical Sciences. Sciences, senior scientific center FBUN State Scientific Center State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology, e-mail: vpokhil003@yandex.ru

Author contributions: All authors made an equivalent contribution to the publication.

The authors declare no conflict of interest. Author contributions: All authors made an equivalent contribution to the publication.

The authors declare no **conflict of interest**.

Rudenko A.A. <https://orcid.org/0000-0002-6434-3497>

Pokhilenko V.D. <https://orcid.org/0000-0002-6273-9199>

Kalmantaev T.A. <https://orcid.org/0000-0002-4367-1096>

Введение. Высокая заболеваемость бактериальными инфекциями в сочетании со значительным увеличением лекарственно-устойчивых патогенов подталкивает птицеводческую промышленность к разработке новых антимикробных стратегий. Потенциал использования бактериоцинов для предотвращения инфекций бактериальной этиологии в основном был направлен на такие патогены как *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* и *Salmonella* spp. - основных возбудителей болезней в птицеводстве. Так, *C. perfringens*, колонизирующая кишечный тракт кур, является возбудителем некротического энтерита [1]. Инфекции *C. jejuni* у людей (кампилобактериоз) являются основной причиной диарейных заболеваний и гастроэнтерита во всем мире [2, 3]. Основной причиной кампилобактериоза является потребление продуктов птицеводства после недостаточной кулинарной обработки [3]. Использование бактериоцинов, активных против *C. jejuni*, может быть перспективной стратегией повышения безопасности пищевых продуктов и защиты здоровья населения [4, 5].

За последние десять-двадцать лет были найдены бактерии-продуценты бактериоцинов, включая *Lactobacillus salivarius* [6, 7], *Bacillus*

circulans [8], *Paenibacillus polymyxa* [8, 9], *Enterococcus faecium* [10, 11], *Carnobacterium divergens* [12], *Leuconostoc mesenteroides* [13], *Lactobacillus sakei* [14], которые активны в отношении *C. jejuni* и других патогенов. Что же делает их привлекательными для применения *in vivo*? Во-первых, некоторые из описанных бактериоцинов технологически не сложно получать. Во-вторых, в большинстве своем они являются термоустойчивыми пептидной природы экзометаболитами, толерантными к перепадам pH и малотоксичными для эукариотических клеток. В-третьих, пероральное введение грубо очищенных бактериоцинов для контроля патогенов пищевого происхождения может быть легко достигнуто путем включения их в корм или питьевую воду. Так, корма, обогащенные бактериоцином B602, обеспечивали защиту кишечника индюшек и кур от колонизации *Campylobacter* sp. [9, 15]. Бактериоцин OR-7 из *Lb. salivarius*, добавленный в корма, практически избавлял птиц от *C. jejuni* [119]. Энтероцин E-760 из *Enterococcus* sp. в составе корма снижал колонизацию естественно приобретенных видов *Campylobacter* у цыплят-бройлеров [17]. Отечественными исследователями показан весьма ощутимый

ростостимулирующий эффект на бройлерную птицу бактериоцинов и бактериоцин-подобных ингибирующих субстанций (Bacteriocin-like-inhibitory substance - BLIS), добавляемых в корм [18, 19].

Использование бактериоцин-продуцирующих бактерий, а не самих бактериоцинов, может быть весьма экономично, но, чтобы такой подход стал осуществимым, необходимо иметь в распоряжении подходящие штаммы-производители. В связи с этим поиск новых штаммов-продуцентов бактериоцинов является актуальным. [20, 21]. В этом плане перспективным является субтилозин – бактериоцин, выделенный из природного штамма *Bacillus subtilis* П19 [22]. Его особенностью является активность в отношении листерий, спорообразующих бацилл и клостридий, а также действие на сами споры в dormant состоянии [22, 23]. Поэтому субтилозин и стал объектом нашего изучения. Технология синтеза, выделения бактериоцина из культуральной жидкости продуцента и перевода его в препаратную форму были ранее описаны [24].

Цель работы. Нарботка представительного количества опытного препарата субтилозина и оценка его эффективности при выращивании бройлеров.

Задачи:

Получить опытный препарат субтилозина в сухом виде и в количестве, достаточном для проведения испытаний на цыплятах-бройлерах.

Определить наличие и уровень антимикробной активности препарата субтилозина для расчета доз при его разведении с кормом.

Организовать и провести испытания эффективности субтилозина на фабрике по промышленному выращиванию бройлеров.

Сравнить весовые и биологические показатели для птиц из опытной и контрольной групп, сделать заключение об биологической и экономической эффективности препарата.

Материалы и методы. Биосинтез бактериоцина проводили методом глубинного культивированием штамма-продуцента *B. subtilis* П19 в ферментере 5У объемом 100 л (г. Кириши, Ленинградская обл.) в 60 л питательной среды на основе гидролизата рыбной муки с добавлением глицерина, дрожжевого экстракта и солей. Синтезированный бактериоцин концентрировали осаждением на клетках продуцента, что обеспечивает снижение объемов переработки ферментатов [22, 24]. Для этого культуральную жидкость (КЖ) сливали в стеклянные бутылки объемом 20 л и закисляли ее до pH 2,5-3,0 добавлением по 250 мл концентрированной соляной кислотой (по 250 мл на каждые 20 л КЖ). Через 16 ч эквilibрации происходило осветление КЖ с образованием рыхлого осадка клеточной массы. Надосадочную жидкость (декантат)

аккуратно сливали, а осадок центрифугировали (Beckman Coulter J6-NC: 4000 об/мин, 30 мин). Декантат и супернатант объединяли, инактивировали автоклавированием и сливали в канализацию.

Бактериоцин содержащую биомассу ресуспендировали в растворе защитной среды (лактоза, 10%; полиглюкин, 1,5%), доводили раствора pH до 6,0-6,5 добавлением 10% раствора NaOH и далее обезвоживали с применением технологии сублимационного высушивания. Для этого объект высушивания разливали в противни слоем 10-15 мм, замораживали при температуре (-75 °C) в течение 5 ч, помещали в сублимационную камеру установки Virtis BT-4k (США), вакуумировали и обезвоживали в течение 24 ч. Остаточную влажность определяли с помощью влагометра MB-35 Halogen OHAUS (Швеция).

Лиофилизат для придания ему порошкообразного состояния с целью последующего смешения с кормом измельчали на шаровой мельнице MTA KUTECZ (Венгрия) и собирали в герметичную емкость.

Проверку образца лиофилизированного бактериоцина на антимикробную активность проводили на тест-штамме *Listeria monocytogenes* 766. Для этого точную навеску бактериоцина (в мг) растворяли в физрастворе (мл) с pH 7,2 – маточнике, из которого получали серию разведений с шагом 1:1. Разведения по 10 мкл наносили на поверхность свежесазеянного тест-штаммом газона с ГРМ-агаром. Чашки с пробами инкубировали при 30 °C в течение 24 ч и затем учитывали предельное разведение препарата, которое подавляли рост тест-штамма. Активность выражали в арбитражных единицах (АЕ) на мл образца.

Испытания эффективности опытного препарата бактериоцина *in-vivo* проводили на площадке агрохолдинга ООО «Птицефабрика Акашевская» в Республике Марий-Эл в течение 38 дней. В эксперимент было взято 40 голов цыплят-бройлеров кросса «Arbor Acres». Птиц в группы для проведения эксперимента подбирали по принципу аналогов – одинаковых по происхождению, возрасту, общему развитию. Птиц для эксперимента, индивидуально взвешивали и распределяли методом случайной выборки. Посадка птиц была произведена в клетки по 20 голов в каждую (контрольная и опытная группы). Условия содержания (микроклимат, нагрузка на кормушки и поилки), корм соответствовали нормативам кросса «Arbor Acres» [25]. Цыплятам опытной группы добавляли бактериоцин с первого по 30 день включительно в количестве от 1 до 2,5% от массы корма.

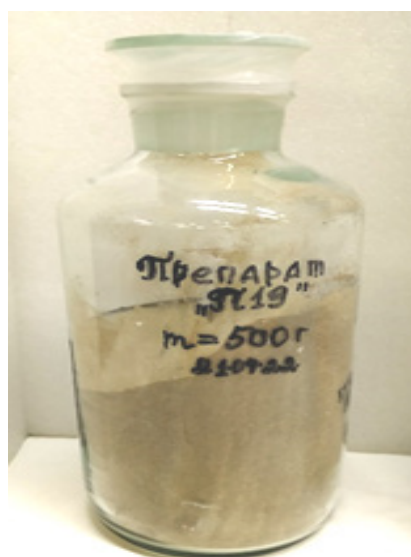
В ходе эксперимента проводили наблюдение за состоянием бройлеров, проводили их

взвешивание, а по завершению эксперимента птиц забивали, вскрывали, отбирали пробы крови, кишечного содержимого на биохимические и микробиологические анализы.

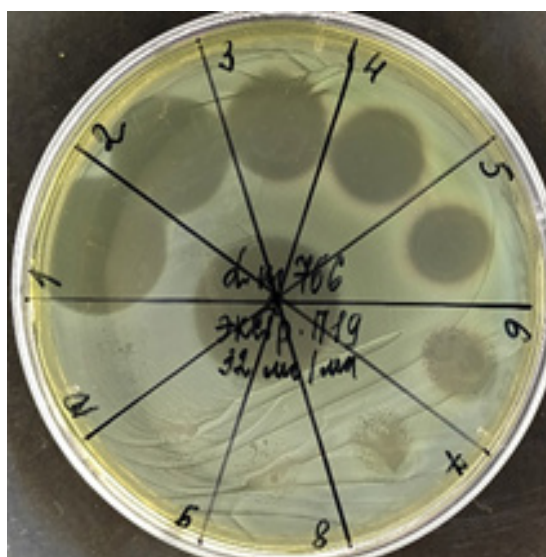
Определение морфологических и биохимических показателей крови цыплят-бройлеров, а также микробиологических анализов кишечных проб проводили в соответствии с общепринятыми методиками [26, 27]. Все результаты исследований обрабатывали биометрическими методами математической статистики. Статистически достоверными считали различия при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Препарат для испытаний «СУБТИЛОЗИН П19» представляет собой сухую форму бактериоцина, адсор-

бированного на собственных клетках штамма-продуцента П19 *B. subtilis*. Лиофилизат после измельчения с остаточной влажностью $4,5 \pm 0,3\%$ помещен в герметичную емкость (Рис. 1а). Проверка образца препарата после регидратации (32 мг/мл) и центрифугирования (12000 об/мин, 10 мин) показала наличие в нем антимикробной активности на уровне 12800 АЕ/мл (Рис. 1б). Если исходить из того, что в 1 мл раствора содержится 32 мг грубого бактериоцина с активностью 12800 АЕ, тогда в 1 мг будет 400 АЕ (Рис. 1б). Следовательно суммарная активность пробы препарата, представленного для испытаний (500 г), составила $(400 \times 500000) 200000000$ АЕ.



а



б

Рисунок 1. Сухой бактериоцин, содержащий препарат (а), и его активность на тест-штамме 766 *Listeria monocytogenes* (б)

Таблица 1

Экспериментально рассчитанные количества бактериоцина, исходя из суточных норм потребления корма бройлерами в различные возрастные периоды

Возраст бройлеров, дни	Нормы корма, г/сутки	Корм для 20 цыплят, г		Количество вводимого в корм препарата бактериоцина на всю возрастную группу	
		в день	на все дни содержания возрастной группы	В %	В г
1-5	15	300	1500 (300x5*)	1,0	15
6-10	20	400	2000 (400x5*)	1,5	30
11-20	45	700	7000 (700x10*)	2,0	140
21-30	65	1300	13000 (1300x10*)	2,45	318
31-40	85	1700	17000 (1700x10*)	0	0
Всего:					500 г

(*) длительность возрастного периода в днях

Располагая 500 г препарата бактериоцина, данными по его активности и суточным нормам потребления корма бройлерами в различные возрастные периоды [28] для опытной группы испытаний готовили следующие об-разцы терапевтических премиксов (Табл. 1).

Результаты эксперимента по напольному содержанию бройлеров с применением бак-териоцина (опыт) и без него (контроль) пред-ставлены в таблицах 2-4. Динамика набора живой массы цыплят-бройлеров из опытной группы, как следует из данных таблицы 2, превысила от 4,2 до 7,3% показатели кон-трольной группы.

В сыворотке крови цыплят опытной груп-пы выявили достоверно значимое увеличение общего белка, альбумина и альбумино-глобу-линового соотношения, но концентрация гло-булина не отличалась от данных в контроль-

ной группе (Табл. 3).

В крови цыплят-бройлеров опытной груп-пы по сравнению с контрольной происходило увеличение уровня гемоглобина, количества эритроцитов, а концентрация лейкоцитов не изменилась (Табл. 4).

Из внутренних органов двух павших птиц контрольной группы выделили *Escherichia coli*, *Salmonella* species, *L. monocytogenes*, *Streptococcus* species, *Pasteurella multocida*, *Aerococcus viridae*, *Pseudomonas mirabilis*, *P. vulgaris* и *P. aeruginosa*. В то же время в ми-крофлоре внутренних органов павшей птицы опытной группы отсутствовали листерии, стрептококки, а из псевдомонад - *P. mirabilis* и *P. vulgaris*.

Результаты оценки экономической эффек-тивности применения бактериоцина приведе-ны в таблице 5.

Таблица 2

Динамика роста живой массы цыплят-бройлеров в сравнительном эксперименте

Возраст птицы, недели	Группа и весовые показатели цыплят, г (M±m)		Превышение в опыте, %
	В контроле (n=20)	В опыте (n=20)	
1	135,9±2,0	143,7±3,3	5,4
2	365,7±5,1	381,7±6,7	4,2
3	697,3±6,9	729,3±6,5*	4,4
4	1068,1±7,9	1129,6±8,8*	5,5
5	1468,7±8,2	1583,7±9,5*	7,3
6	1908,7±11,0	2023,4±11,7*	5,7

(*) достоверные отличия

Таблица 3

Исследование влияния бактериоцина на биохимические показатели сыворотки крови цыплят-бройлеров (M±m)

Биохимические показатели	Группа и значения показателей, г/л (M±m)	
	В контроле (n=20)	В опыте (n=20)
Общий белок	39,8± 1,1	42,3 ± 1,2*
Альбумин (А)	15,9± 1,7	17,9 ± 1,1*
Глобулин (Г)	23,9± 1,3	24,4 ± 1,6
Соотношение А/Г	0,66± 0,08	0,73 ± 0,11*

(*) достоверные отличия

Таблица 4

Влияние бактериоцина на гематологические показатели цыплят-бройлеров

Гематологические показатели	Группа и значения показателей (M±m)	
	В контроле (n=20)	В опыте (n=20)
гемоглобин, г/л	64,3±1,3	72,8±0,8 *
эритроциты 10 ¹² /л	1,69±0,18	2,18±0,09 *
лейкоциты, 10 ⁹ /л	23,7±0,73	22,9±0,9

(*) достоверные отличия

Таблица 5

Экономическая эффективность применения бактериоцина субтилозина

Показатели эффективности	Группа и значения показателей	
	В контроле	В опыте
Количество птиц	20	20
Сохранность, %	90	95
Прирост живой массы, кг	34,7	36,5
Стоимость прироста живой массы по закупочным ценам (83 руб./кг)	2880,1	3029,5
Потребность в комбикорме по группе, кг	84,6	83,3
Затраты, руб.	1950	2010
Себестоимость 1 кг прироста живой массы, руб.	56,2	55,1
Прибыль, руб.	930,1	1019,5
Рентабельность, %	47,6	50,7

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что бактериоцин субтилозин П19 не оказывает негативного влияния на организм цыплят-бройлеров. При этом морфологические и биохимические показатели крови птицы опытной группы соответствовали физиологической норме [25]. Одновременно анализ результатов указывает на улучшение обменных процессов в организме цыплят, получавших препарат бактериоцина, что подтверждается увеличением их живой массы относительно контрольной группы, а также их лучшей сохранности (Табл. 5). Полученные результаты не противоречат данным литературы о пользе пробиотиков, метабиотиков и других добавок микробного происхождения, включая бактериоцины и BLIS, при кормлении бройлерной птицы [8, 10, 15-19, 29]. В отличие от антибиотиков бактериоцины обладают узким спектром антимикробного действия, направленным, в основном, на па-

тогены грамположительной природы, что мы и наблюдали по некоторому различию в микрофлоре внутренних органов контрольной и опытной групп бройлеров. Что же касается количества добавляемых в корм бактериоцинов на этот вопрос в профильной литературе пока нет четкого ответа. Основная причина кроется в разнообразии бактериоцинов и отсутствии достаточно отработанной практики получения стандартных препаратов этой категории. Поэтому в наших исследованиях мы исходили из имеющегося в наличии бактериоцина и его активности. Подсчет экономических показателей применения опытного препарата бактериоцина показал, что уровень рентабельности в опытной группе выше, чем в контроле. При этом наблюдалась тенденция к уменьшению потребности в комбикорме цыплятами опытной группы, что приводит к снижению общей конверсии корма.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kruszewska D., Sahl H.G., Bierbaum G., Pag U. et al. Ljungh A. Mersacidin eradicates methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a mouse rhinitis model / J. Antimicrob Chemother. 2004. Vol. 54. P. 648–653. doi: 10.1093/jac/dkh387
2. Humphrey T., O'Brien S., Madsen M. Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective / Int J Food Microbiol. 2007. Vol. 117. P. 237–257.
3. Allos B.M. Campylobacter jejuni infections: update on emerging issues and trends / Clin Infect Dis. 2001. Vol. 32. P. 1201–1206.
4. Lin J. Novel approaches for Campylobacter control in poultry / Foodborne Pathog Dis. 2009. Vol. 6. P. 755–765.
5. Svetoch E.A., Stern N.J. Bacteriocins to control Campylobacter spp. in poultry—a review / Poult Sci. 2010. Vol. 89. P. 1763–1768.
6. Svetoch E.A., Eruslanov B.V., Levchuk V.P. et al. Isolation of *Lactobacillus salivarius* 1077 (NRRL B-50053) and characterization of its bacteriocin, including the antimicrobial activity spectrum / Appl Environ Microbiol. 2011. Vol. 77. P. 2749–2754.
7. Messaoudi S., Kergourlay G., Dalgalarondo M. et al. Purification and characterization of a new bacteriocin active against Campylobacter produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51 / Food Microbiol. 2012. Vol. 32. P. 129–134.
8. Svetoch E.A., Stern N.J., Eruslanov B.V. et al. Isolation of *Bacillus circulans* and *Paenibacillus polymyxa* strains inhibitory to Campylobacter jejuni and characterization of associated bacteriocins / J. Food Prot. 2005. Vol. 68. P. 11–17.

9. Stern N.J., Svetoch E.A., Eruslanov B.V. et al. Paenibacillus polymyxa purified bacteriocin to control Campylobacter jejuni in chickens / J. Food Prot. 2005. Vol. 68. P. 1450–1453.
10. Svetoch E.A., Eruslanov B.V., Perelygin V.V. et al. Diverse antimicrobial killing by Enterococcus faecium E 50-52 bacteriocin / J. Agric Food Chem. 2008. Vol. 56. P. 1942–1948.
11. Cintas L.M., Casaus P., Herranz C. et al. Biochemical and genetic characterization of enterocin P, a novel sec-dependent bacteriocin from Enterococcus faecium P13 with a broad antimicrobial spectrum / Appl Environ Microbiol. 1997. Vol. 63. P. 4321–4330.
12. Metivier A., Pilet M.F., Dousset X. et al. Divercin V41, a new bacteriocin with two disulphide bonds produced by Carnobacterium divergens V41: primary structure and genomic organization / Microbiology. 1998. Vol. 144. P. 2837–2844.
13. Fleury Y., Dayem M.A., Montagne J.J. et al. Covalent structure, synthesis, and structure-function studies of mesentericin Y 105(37), a defensive peptide from gram-positive bacteria Leuconostoc mesenteroides / J Biol Chem. 1996. Vol. 271. P. 14421–14429.
14. Holck A.L., Axelsson L., Huhne K. et al. Purification and cloning of sakacin 674, a bacteriocin from Lactobacillus sakei Lb674 / FEMS Microbiol Lett. 1994. Vol. 115. P. 143–149.
15. Cole K., Farnell M.B., Donoghue A.M. et al. Bacteriocins reduce Campylobacter colonization and alter gut morphology in turkey poults / Poult Sci. 2006. Vol. 85. P. 1570–1575.
16. Stern N.J., Svetoch E.A., Eruslanov B.V. et al. Isolation of a Lactobacillus salivarius strain and purification of its bacteriocin, which is inhibitory to Campylobacter jejuni in the chicken gastrointestinal system / Antimicrob Agents Chemother. 2006. Vol. 50. P. 3111–3116.
17. Line J.E., Svetoch E.A., Eruslanov B.V. et al. Isolation and purification of enterocin E-760 with broad antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria / Antimicrob Agents Chemother. 2008. Vol. 52. P. 1094–1100.
18. Похиленко В.Д., Перелыгин В.В., Садикова Г.Т. и др. Эффективность бактериоцина Bacillus lentus при применении бройлерам / Ветеринария. 2014. №1. С. 14–18.
19. Pokhilenko V.D., Perelygin V.V., Spiridonov D.N. et al. Bacillus lentus metabolites with antimicrobial activity as a new generation of growth promoters for animals / EC Microbiology. 2020. Vol. 16. № 5. P. 117–123.
20. Храмов В.М., Калмантаев Т.А., Садикова Г.Т. и др. Антимикробный комплекс пептидной природы Enterococcus mundtii PPHS-5/13 / Вестник Томского государственного университета. // Биология. 2015. № 1 (29). С. 37–55.
21. Калмантаев Т.А., Клыкова М.В., Дунайцев И.А. и др. Новые перспективные штаммы-продуценты бактериоцин-подобных соединений и биологически активных веществ / Свидетельство о регистрации базы данных 2022622499. Заявка № 2022622095 от 26.08.2022.
22. Похиленко В.Д., Калмантаев Т.А., Дунайцев И.А. и др. Выделение и характеристика бактериоцина штамма Bacillus subtilis, изолированного из пассифлоры / Бактериология. 2022. Т. 7. № 1. С. 9–17.
23. Похиленко В.Д., Калмантаев Т.А., Чукина И.А. и др. Действие субтилозина против возбудителей сибирской язвы, клостридиозов и листериоза / В сборнике: Наука, образование, производство, импортозамещение в медицине и фармации. Под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.А. Киселевой, В.В. Помазанова // Орехово-Зуево - Электрогорск. 2022. С. 88–91.
24. Патент РФ № 2758060. Штамм Bacillus subtilis - продуцент низкомолекулярного антимикробного пептида и способ получения низкомолекулярного антимикробного пептида / Дата подачи заявки: 19.10.2020. Опубликовано: 26.10.2021. Бюл. № 30.
25. Arbor Acres Руководство по выращиванию бройлерного стада / VIPP Agri Services B.V. // Москва. 109012. Aviagen Newbridge Midlothian EH28 8SZ. Scotland, UK. 2009. 67 с.
26. Садовников Н.В., Придыбайло Н.Д., Верещак Н.А. и др. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / Екатеринбург- СПб. Изд-во: Уральская ГСХА. 2009. 86 с.
27. Кондрахин И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / М.: Колосс. 2004. 520 с.
28. Кормление бройлеров - разбираем все тонкости правильного рациона / <https://prokyr.ru/razvedenie-i-soderzhanie/chem-kormit-brojlerov-403/>.
29. Лоретц О.Г., Горелик О.В., Зяблицева М.А. и др. Динамика морфологических и биохимических показателей крови цыплят-бройлеров при использовании в рационе микробиологических препаратов / Аграрный вестник Урала. Биология и биотехнологии. 2017. № 11 (165). С. 25–31.

Статья поступила в редакцию 07 июля 2023 г.