

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., Степанова А.М., Парникова С.И., Дулова С.В., Скрыбина М.П., Обоева Н.А.

## Бактерицидная активность санитарно-гигиенического средства на основе штаммов бактерий *Bacillus subtilis*

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Якутский научный центр» СО РАН Якутский НИИ сельского хозяйства имени М.Г. Сафронова, 677001, Якутск

**Введение.** Возможной альтернативой традиционным методам обработки химическими дезинфектантами могут служить эффективные и безопасные препараты на основе штаммов бактерий *Bacillus subtilis*. Разработка эффективных санитарно-гигиенических средств на основе штаммов бактерий *Bacillus subtilis* для санации воздуха, предметов обихода и помещений, не оказывающих отрицательного воздействия на организм в присутствии человека, животных и птиц, является актуальной задачей санитарии и гигиены.

**Материал и методы.** В раствор гидрокарбоната и хлорида натрия вносили суспензии равного сочетания штаммов бактерий *Bacillus subtilis* ТНП-3 и *Bacillus subtilis* ТНП-5. Штаммы выделены из мерзлотных почв Якутии, паспортизированы и депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов, используемых в животноводстве и ветеринарии (ВГНКИ, г. Москва). Бактерицидную активность растворов «Пробиодез 3+5» изучали методом «бязевых тестов». В качестве тест-культур использовали 2 млрд взвеси суточных культур *Str. equi* Н-34 и *Sal. abortus equi* БН-12». Эффективность санитарной обработки учитывали по уровню бактериальной обсеменённости – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на коже сосков вымени.

**Результаты.** Надёжное обеззараживание бязевых тестов, контаминированных *Str. equi* Н-34, установлено при применении «Пробиодез 3+5» ( $5 \cdot 10^8$  КОЕ/мл) экспозиции 6 ч. При увеличении дозы *B. subtilis* в растворе «Пробиодез 3+5» до ( $1 \cdot 10^9$  КОЕ/мл) достигается надёжное обеззараживание бязевых тестов, контаминированных *Sal. abortus equi* БН-12, экспозиции 6 ч. Препарат «Пробиодез 3+5» способствует снижению общей бактериальной обсеменённости и субклинических маститов, эффективен для санитарно-гигиенической обработки в молочном скотоводстве.

**Заключение.** Результаты проведённых исследований позволяют заключить о перспективности штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 для разработки эффективных, безопасных гигиенических и санирующих средств широкого применения.

**Ключевые слова:** бактерицидная активность; *Bacillus subtilis*; *Streptococcus equi*; *Salmonella abortus equi*; бактериальная обсеменённость; санация вымени коров.

**Для цитирования:** Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., Степанова А.М., Парникова С.И., Дулова С.В., Скрыбина М.П., Обоева Н.А. Бактерицидная активность санитарно-гигиенического средства на основе штаммов бактерий *Bacillus subtilis*. Гигиена и санитария. 2020; 99(3): 265-269. DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-3-265-269>

**Для корреспонденции:** Тарабукина Надежда Петровна, доктор вет. наук, проф., зав. лаб. по разработке микробных препаратов ФГБУН ФИЦ «ЯНЦ СО РАН» ЯНИИСХ, 677001, Якутск. E-mail: hotubact@mail.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Тарабукина Н.П., Неустроев М.П.; сбор и обработка материала – Степанова А.М., Дулова С.В., Парникова С.И., Скрыбина М.П., Обоева Н.А.; статистическая обработка – Степанова А.М., Дулова С.В.; написание текста – Тарабукина Н.П., Степанова А.М.; редактирование – Неустроев М.П.; утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все соавторы.

Поступила: 01.03.2019

Принята к печати: 12.12.2019

Опубликована: 20.04.2020

Tarabukina N.P., Neustroev M.P., Stepanova A.M., Parnikova S.I., Dulova S.V., Scryabina M.P., Obueva N.A.

## Bactericidal activity of a sanitary and hygienic product based on *Bacillus subtilis* bacteria strains

M.G. Safronov Federal Research Center “Yakutsk Scientific Center” SB RAS Yakut Scientific Research Institute of Agriculture, Yakutsk, 677001, Russian Federation

**Introduction.** A possible alternative to traditional methods of the treatment with chemical disinfectants are effective and safe preparations based on strains of bacteria *Bacillus subtilis*. The development of effective hygiene products based on *Bacillus subtilis* bacteria strains for air sanitation, household items, and rooms that do not adversely affect the body in the presence of humans, animals, and birds is an urgent task of sanitation and hygiene.

**Material and methods.** Suspensions of an equal combination of the bacterial strains *Bacillus subtilis* TNP-3 and *Bacillus subtilis* TNP-5 were added to a solution of bicarbonate and sodium chloride. The strains were isolated from the permafrost soils of Yakutia, certified and deposited in the All-Russian collection of microorganisms used in animal husbandry and veterinary medicine (VGNKI, Moscow). The bactericidal activity of the «Probiodes 3 + 5» solutions was studied by the method of “coarse calico tests”. As test cultures there was used 2 billion suspension of diurnal cultures of *Str. equi* H-34 and *Sal. abortus equi* BN-12. The effectiveness of sanitization was taken into account according to the level of bacterial contamination – the number of mesophilic aerobic and facultative anaerobic microorganisms (KMAFAnM) on the skin of the nipples of the udder.

**Results.** Reliable disinfection of coarse calico tests contaminated with *Str. equi* H-34, was established with the use of «Probiodes 3 + 5» ( $5 \times 10^8$  CFU/ml) for 6 hours exposure. By increasing the dose of *B. subtilis* in the solution «Probiodes 3 + 5» to ( $1.0 \times 10^9$  CFU/ml), there was reliable disinfection of coarse calico tests contaminated with *Sal. abortus equi* BN-12, exposure 6 hours. The drug «Probiodes 3 + 5» helps to reduce the total bacterial contamination and subclinical mastitis, effective for sanitary-hygienic treatment in dairy cattle breeding.

**Conclusion.** The results of the studies allow making a conclusion that the bacterial strains *B. subtilis* TNP-3 and *B. subtilis* TNP-5 are promising for the development of effective, safe hygienic and sanitizing agents for widespread use.)

**К е у о р д с :** Bactericidal activity; *Bacillus subtilis*; *Streptococcus equi*; *Salmonella abortus equi*; bacterial contamination; redevelopment of the udder of cows.

**For citation:** Tarabukina N.P., Neustroev M.P., Stepanova A.M., Parnikova S.I., Dulova S.V., Scryabina M.P., Oboeva N.A. Bactericidal activity of a sanitary and hygienic product based on *Bacillus subtilis* bacteria strains. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2020; 99(3): 265-269. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-3-265-269>

**For correspondence:** Nadezda P. Tarabukina, MD, Ph.D., DSci., professor, the head of the laboratory on development of microbic medicines, Federal Research Center “Yakutsk Scientific Center” SB RAS Yakut M.G. Safronov Scientific Research Institute of Agriculture, Yakutsk, 677001, Russian Federation. E-mail: hotubact@mail.ru

#### Information about the authors:

Tarabukina N.P., <https://orcid.org/0000-0002-5493-8809>; Neustroev M.P., <https://orcid.org/0000-0003-0672-4109>; Stepanova A.M., <https://orcid.org/0000-0002-0745-2611>; Parnikova S.I., <https://orcid.org/0000-0002-0808-3627>; Dulova S.V., <https://orcid.org/0000-0001-6854-2429>; Skryabina M.P., <https://orcid.org/0000-0003-4306-5958>; Oboeva N.A., <https://orcid.org/0000-0002-5200-5175>

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

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Contribution:** concept and design of the study – Tarabukina N.P., Neustroev M.P.; collection and processing of material – Stepanova A.M., Parnikova S.I., Dulova S.V., Scryabina M.P., Oboeva N.A.; statistical processing – Stepanova A.M., Dulova S.V.; writing a text – Tarabukina N.P., Stepanova A.M.; editing – Neustroev M.P.; approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

Received: March 1, 2019

Accepted: December 12, 2019

Published: April 20, 2020

## Введение

Применение дезинфицирующих технологий, основанных на использовании химических препаратов, приводит к ряду нежелательных последствий, таких как кумуляция в организме остаточных веществ, их выраженное иммунодепрессивное действие, трансформация во внешней среде до канцерогенов и экзотоксинов, коррозионное действие, необходимость нейтрализации после их применения, устойчивость микробиоты, вызванная многолетним использованием препаратов одного типа [1].

В последние годы разрабатываются новые средства гигиены, санитарии на основе бактерий *Bacillus subtilis*, применяемые в различных отраслях промышленности, сельского хозяйства, медицины, охраны окружающей среды. Выраженная эффективность бацилл обусловлена комплексом биологических свойств этих микроорганизмов: экологическая безопасность, безвредность даже в высоких концентрациях, способность повышать неспецифическую резистентность организма, антагонистическая активность к широкому ряду патогенных и условно патогенных микроорганизмов, ферментативных активностей и стабильность при хранении [1–8].

В результате многолетних исследований по микробной экологии установлено, что в микробиоценозе природной среды Крайнего Севера доминирующее положение занимают бактерии рода *B. subtilis*, которые характеризуются уникальным сочетанием комплекса биологически активных свойств, особенно выраженной антагонистической активностью против патогенных и условно патогенных микроорганизмов и комплексом ферментативной активности. В настоящее время разработаны пробиотические препараты на основе штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5, которые успешно применяются в северном животноводстве. Исследования последних лет показывают эффективность и перспективность штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и

*B. subtilis* ТНП-5 в санации инкубационных яиц и кормов для зверей, обеззараживании криохранилищ от плесневых и токсигенных грибов [9–12]. Установлены безвредность и отсутствие токсичности штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 на лабораторных животных, что предполагает перспективность их применения в медицине [13]. На основании вышеизложенного расширение области применения штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 открывает новые перспективы их использования.

В настоящее время в связи с биологизацией сельского хозяйства интенсивно разрабатываются технологии создания и применения биологических средств, которые могут быть одновременно эффективны и безопасны для животных, обслуживающего персонала, окружающей среды и способствовать получению высококачественной органической продукции.

Цель исследований – изучение бактерицидной активности санитарно-гигиенического средства на основе штаммов бактерий *B. subtilis*.

## Материал и методы

Бактерицидную активность растворов «Пробиодез 3+5» изучали методом «бязевых тестов», согласно «Микробиологическим методам исследований и критериям оценки эффективности дезинфицирующих и стерилизующих средств» (02.06.2010 г.). В качестве тест-культур использовали 2 млрд взвеси суточных культур *Str. equi* H-34 и *Sal. abortus equi* BN-12, паспортизированных и депонированных во Всероссийском государственном научном контрольном институте ветпрепаратов (ВГНКИ, г. Москва).

В качестве моющей основы использовали растворы гидрокарбоната (0,5%) и хлорида натрия (1%). С целью обеспечения бактерицидной активности внесли в раствор гидрокарбоната и хлорида натрия суспензии равного сочетания штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5. Штаммы выделены из мерзлотных почв Якутии,

Таблица 1

Результаты бактерицидного действия растворов «Пробиодез 3+5» по отношению к *Salmonella abortus equi* БН-12 и *Streptococcus equi* Н-34

Экспозиция	«Пробиодез 3+5» с содержанием <i>Bacillus subtilis</i> ТНП-3 и <i>Bacillus subtilis</i> ТНП-5						Контроль – раствор с содержанием 1% NaCl + 0,5% NaHCO <sub>3</sub> рН 9,2 ± 0,1	
	1,5 · 10 <sup>5</sup> КОЕ/мл рН 9,1 ± 0,1		5 · 10 <sup>8</sup> КОЕ/мл рН 9,1 ± 0,1		1 · 10 <sup>9</sup> КОЕ/мл рН 9,1 ± 0,1			
	<i>Salmonella</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Streptococcus</i>
15 мин	+	+	+	+	+	+	+	+
30 мин	+	+	+	+	+	+	+	+
1	±	±	±	±	±	±	+	+
3 ч	±	±	±	±	±	±	+	+
6 ч	±	±	±	–	–	–	+	+
18 ч	±	±	±	–	–	–	+	+
24 ч	±	±	±	–	–	–	+	+

Примечание. (+) – рост тест-культур (*Salmonella abortus equi* БН-12 и *Streptococcus equi* Н-34); (±) – одновременный рост тест-культуры и *Bacillus subtilis*; (–) – отсутствие роста тест-культуры, рост *Bacillus subtilis*.

паспортизованы и депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов, используемых в животноводстве и ветеринарии (ВГНКИ, г. Москва).

При постановке опытов учитывали содержание равного сочетания штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 «Пробиодез 3+5» в КОЕ в 1 мл раствора. Испытали в составе «Пробиодез 3+5» разные дозы *B. subtilis* – 1,5 · 10<sup>5</sup> КОЕ/мл; 5 · 10<sup>8</sup> КОЕ/мл; 1 · 10<sup>9</sup> КОЕ/мл, при экспозициях 15; 30 мин, 1; 3; 6; 18; 24 ч.

В растворах «Пробиодез 3+5» определяли рН с использованием рН-метра «Mettler Toledo». Для изучения зависимости активности растворов «Пробиодез 3+5» от присутствия органических веществ добавляли к суспензии тест-культур 20% инактивированную лошадиную сыворотку при контаминации бязевых тест-объектов.

Для определения бактерицидного действия бязевые тест-объекты, контаминированные тест-культурами, погружали в растворы «Пробиодез 3+5». При этом учитывали дозу *B. subtilis* в растворах «Пробиодез 3+5» и время воздействия. По истечению заданной экспозиции тест-объекты извлекали из растворов, промывали 3-кратно в стерильной дистиллированной воде. Далее проверяли жизнеспособность тест-культуры посевом на питательные среды и микроскопией выросших микроорганизмов.

Посевы выдерживали в термостате при температуре 37 °С в течение 18–24 ч. Каждый опыт сопровождали контролем. Контрольный материал обрабатывался аналогично опытному, только вместо испытуемого средства брали раствор, содержащий 1% NaCl и 0,5% NaHCO<sub>3</sub>.

Клинические испытания «Пробиодез 3+5» для обработки сосков вымени коров проводили в животноводческом комплексе «Сырдаах» в ОАО «Сахаплемобъединение». Хозяйство специализируется на товарном производстве молока. Соски вымени коров ежедневно после вечернего доения обрабатывались санитарно-гигиеническим средством «Пробиодез 3+5» в концентрации *B. subtilis* (1,5 · 10<sup>5</sup> КОЕ/мл) в течение 1 мес. Средство наносили с помощью опрыскивателя «Ротра а прескомпрессione» на кожу сосков вымени в течение 3–5 с из расчёта 1 мл на 1 сосок. До и после испытаний взяты смывы с сосков вымени коров для микробиологических исследований, также исследовали на наличие субклинического мастита с применением экспресс-теста «Масттест», согласно

инструкции. Эффективность санитарной обработки учитывали по уровню бактериальной обсеменённости – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) на коже сосков вымени.

## Результаты

Бактерицидное действие средств определяли по отсутствию роста бактерий *Streptococcus* и *Salmonella* на средах в течение срока наблюдения и отсутствию в мазках при микрокопии и наличию тест-культур в мазках при одновременном росте на контрольных посевах на основании не менее трех совпадающих результатов. Результаты проведённых исследований представлены в табл. 1.

Как показывают результаты опытов, обеззараживание бязевых тестов, контаминированных *Str. equi* Н-34, установлено при применении «Пробиодез 3+5» (с содержанием *B. subtilis* 5 · 10<sup>8</sup> КОЕ/мл) при экспозиции 6 часов. При увеличении дозы *B. subtilis* в растворе «Пробиодез 3+5» до 1 · 10<sup>9</sup> КОЕ/мл достигается надёжное обеззараживание бязевых тестов, контаминированных *Sal. abortus equi* БН-12, при экспозиции 6 ч. Следует отметить, что снижение бактерицидной активности растворов «Пробиодез 3+5» относительно к *Str. equi* и *Sal. abortus equi* в присутствии белковой защиты (до 20%) не установлено. Штаммы бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 сохраняют исходные физиолого-биохимические, антагонистические свойства в составе санитарно-гигиенического средства «Пробиодез 3+5» более 12 мес (срок наблюдения). Проведённые доклинические испытания показали, что «Пробиодез 3+5» является безопасным и не оказывает токсического и сенсибилизирующего действия на организм лабораторных животных.

Санитарно-гигиенические средства, оказывая бактерицидный эффект, должны быть гипоаллергенными, не вызывать дискомфорта у животных, а при работе с гигиеническим средством не должны возникать потребности в использовании специальных средств индивидуальной защиты обслуживающего персонала.

Проведены клинические испытания «Пробиодез 3+5» (в концентрации *B. subtilis* 1,5 · 10<sup>5</sup> КОЕ/мл) в качестве санитарно-гигиенического средства для обработки сосков вымени коров. Эффективность санитарной обработки определяли

Таблица 2

## Результаты испытаний «Пробиодез 3+5» для обработки вымени коров

Период исследования	Всего голов	КМАФАнМ на коже сосков вымени, КОЕ/см <sup>3</sup>	Количество коров, положительно реагирующих на «Масттест» (субклинический мастит)
До обработки	82	22,6 • 10 <sup>5</sup>	23%
После 30-дневной обработки	82	20,6 • 10 <sup>3</sup>	17,3%

по уровню бактериальной обсеменённости (КМАФАнМ) на коже сосков вымени. Также учитывали результаты экспресс-диагностики на наличие скрытых маститов у дойных коров.

Результаты представлены в табл. 2.

Как показывают результаты микробиологических исследований, если в начале испытаний до обработки общая бактериальная обсеменённость сосков вымени составляла 22,6 • 10<sup>5</sup> КОЕ/мл, то в конце – 20,6 • 10<sup>3</sup> КОЕ/мл. Следовательно, при ежедневной санитарной обработке сосков вымени коров средством «Пробиодез 3+5» в течение месяца установлено снижение КМАФАнМ в 110 раз.

## Обсуждение

Значительное снижение общей бактериальной обсеменённости кожи сосков вымени коров при ежедневной санитарной обработке «Пробиодез 3+5» в течение 30 дней показало высокую бактерицидную активность штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5, являющихся основой

этого средства, и подтвердило результаты предыдущих исследований о выраженной антагонистической активности указанных штаммов к широкому спектру патогенных и условно патогенных микроорганизмов [9–13].

При диагностических исследованиях на субклинический мастит с применением экспресс-метода «Масттест» установлено, что за 30-дневный период применения «Пробиодез 3+5» заболеваемость маститом снизилась на 5,7%. Полученные результаты подчёркивают важность санитарно-гигиенической обработки при производстве молока. Коровье молоко является основным продуктом молочного животноводства. За последние годы как в мире, так и в нашей стране возросли требования к санитарному качеству производимого молока. Наиболее важными в санитарном отношении являются показатели степени чистоты молока и его бактериальной обсеменённости. Одним из основных источников загрязнения молока патогенной микрофлорой служат больные маститом коровы, некачественная обработка вымени до и после доения [14].

Таким образом, в результате клинических испытаний «Пробиодез 3+5» с содержанием штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 (в концентрации 1,5 • 10<sup>5</sup> КОЕ/мл) для санитарной обработки сосков вымени коров установлено снижение количества общей бактериальной обсеменённости (в 110 раз) и субклинических маститов (на 5,7%), не отмечено аллергических реакций у животных и обслуживающего их персонала. На «Способ санации вымени коров с применением штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5» получен патент РФ под № 2694204, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ 09.07.2013 г. [15].

## Заключение

Результаты проведённых исследований позволяют заключить о перспективности штаммов бактерий *B. subtilis* ТНП-3 и *B. subtilis* ТНП-5 для разработки эффективных, безопасных гигиенических и saniрующих средств широкого применения.

## Литература

- Сверчкова Н.В., Заславская Н.С., Романовская Т.В., Коломиец Э.И. Новые пробиотические препараты для животноводства на основе бактерий рода *Bacillus*. *Вестн Нацыянальнай акадэмі навук Беларусі*. 2014; 1: 96–100.
- Walker R., Buckley M.A. report from the American Academy of Microbiology. 2006. 22 p. [Electronic resource]. Mode of access: <http://www.antibiotic.ru>. Date of access: 05.02.2013.
- Похиленко В.Д., Перелыгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность. *Химическая и биологическая безопасность*. 2007; 2–3: 20–41.
- Hall-Stoodley., William J., Stoodley C. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2: 95–108.
- Арсенюк А.Ю., Павлова И.Б. Электронно-микроскопическое исследование влияния действия биологически активных веществ, продуцируемых *Bacillus subtilis*, на морфологию популяций *Salmonella typhimurium*. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2015; 2 (14): 49–55.
- Павлова И.Б., Арсенюк А.Ю., Жиленкова О.Г., Комбарова С.Ю. Экспериментальное электронно-микроскопическое исследование влияния биологически активных веществ *Bacillus subtilis* на популяции *Lactobacillus b Bifidobacterium*. *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. 2016; 1 (17): 52–64.
- Палий А.П., Палий А.П. Антимикробное действие нового альдегидного дезинфицирующего средства. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2014; 10 (120): 99–103.
- Ноздрин Г.А., Морузи И.В., Старцева Е.А., Иванова А.Б., Пищенко Е.В. Влияние микробиологического препарата BS-225 на сохранность молодняка алтайского зеркального карпа при содержании в садках. *Рыбоводство и рыбное хозяйство*. 2015; 10: 50–54.
- Ноздрин Г.А., Диденко Е.А., Леляк А.А., Андреева З.В. Гематологические показатели крови лошадей различного возраста при применении пробиотика ветом 3.22. *Журнал животных и ветеринарных достижений*. 2015; 14 (13): 399–406.
- Неустроев М.П., Тарабукина Н.П., Степанова А.М., Парникова С.И., Петрова С.Г. Бактерицидное действие штаммов *Bac. Subtilis*. к возбудителям лептоспироза. *Российская с/х наука (Доклады РАСХН)*. 2015; 4: С. 63–65 (in Russian)
- Лискова Е., Слинникова К. Антагонистическая активность споровых пробиотиков. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2012; 9: 60–3.
- Неустроев М.П., Петрова С.Г. Технология применения пробиотика «Сахабактисубтил» в табунном коневодстве. *Вестник сельскохозяйственного консультирования ВСК (МСХ РФ)*. 2016; 2: 82–94.
- Неустроев М.П., Мурашов А.Н., Бондаренко Д.А., Степанова А.М., Тарабукина Н.П. Исследование токсичности препарата Сахабактисубтил на крысах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2017; 5: 59–64.
- Карпенко Н. Качественная обработка вымени – потенциальная прибыль. *Ветеринарное дело*. 2015; 12: 19–21.
- Патент РФ на изобретение №2694204 «Способ санации вымени коров с применением штаммов бактерий *Bacillus subtilis*». Приоритет изобретения 20.02.2018. Гос. регистрация от 09.07.2019.

## References

- Sverchkova N.V., Sverchkov N.V., Zaslavskaya N.S., Romanovskaya T.V., Kolomiets E.I. New probiotic products for livestock on the basis of bacteria of the genus *Bacillus*. *Beatsi Natsional'noy akademii nauk Belarusi [Proceedings of the national Academy of Sciences of Belarus]*. 2014; 1: 96–100. (in Belarusian)
- Walker R., Buckley M. A report from the American Academy of Microbiology. 2006. 22 p. [Electronic resource]. Mode of access: <http://www.antibiotic.ru>. Date of access: 05.02.2013.
- Pokhilenko V.D., Perelygin V.V. Probiotics based on spore-forming bacteria and their safety. *Khimicheskaya i biologicheskaya bezopasnost' [Chemical ibiological safety]*. 2007; 2–3: 20–41. (in Russian)
- Hall-Stoodley, William J., Stoodley C. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004; 2: 95–108.
- Arsenyuk A.Y., Pavlova I.B. Electron-microscopic study of influence of action of biologically active substances produced by *Bacillus subtilis* on morphology of *Salmonella typhimurium* populations. *Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii [Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology]*. 2015; 2 (14): 49–55. (in Russian)
- Pavlova I.B., Arsenyuk A.Y., Zhilenkova O.G., Kombarova S.Y. Experimental electron microscopic study of the influence of biologically active substances *Bacillus subtilis* on the population *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Problemy veterinarnoy sanitarii, gigiyeny i ekologii [Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology]*. 2016; 1 (17): 52–64. (in Russian)
- Paliy A.P., Paliy A.P. Efficiency of application of some disinfecting preparations in veterinary medicine. *Vestnik Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of Altai State Agrarian University]*. 2014; 5 (115): 135–8. (in Russian)
- Nozdrin G.A., Moruzi I.V., Startseva T.A., Ivanova A.B., Pishchenko E.A. The influence of the microbiological preparation BS 225 on the safety of young mirror carp when kept in cages *[J. Fish breeding and fisheries]*. 2015; 3: 50–54.
- Nozdrin G.A., Didenko E.A., Lelyak A.A., Andreeva Z.V. Hematological blood indexes of various age sport horses at use of probiotic medicine vetom 3.22. *Zhurnal zhivotnykh i veterinarnykh dostizheniy [Journal of Animal and Veterinary Advances]*. 2015; 14 (13): 399–406.
- Neustroev M.P., Tarabukina N.P., Stepanova A.M., Parnikova S.I., Petrova S.G. Bactericidal effect of strains of *Bac. Subtilis*. to causative agents of leptospirosis. *[Russian agricultural science (Reports of RAAS)]*. 2015; 4: 63–65 (in Russian)
- Liskova E., Slinina K. Antagonistic activity of spore probiotics. *Veterinariya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh [Veterinary of Farm Animals]*. 2012; 9: 60–3. (in Russian)
- Neustroev M.P., Petrova S.G. Technology of application of a probiotic “Sakhabaktisubtil” in herd horse breeding. *Vestnik sel'skokhozyaystvennogo konsul'tirovaniya VSK (MSKh RF) [Bulletin of agricultural consultancy VSK (Ministry of agriculture of the Russian Federation)]*. 2016; 2: 82–94. (in Russian)
- Neustroev M.P., Murashov A.N., Bondarenko D.A., Stepanova A.M., Tarabukina N.P. A study of the toxicity of the drug Sahabactisubtil in rats. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]*. 2017; 5: 59–64.
- Karpenko N. Qualitative processing of the udder – potential profit. *Veterinarnoe delo*. 2015; 12: 19–21. (in Russian)
- Method for the rehabilitation of the udder of cows using bacteria strains of *Bacillus subtilis*. Patent RF N 2694204. 2019. (in Russian)