

РАСПРОСТРАНЕНИЕ *BACILLUS CEREUS* И *BACILLUS MYCOIDES* В ОБЪЕКТАХ САНИТАРНОГО НАДЗОРА

Феоктистова Наталья Александровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Калдыркаев Андрей Иванович, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Золотухин Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина»

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(422)559547

e-mail: feokna@yandex.ru

Ключевые слова: *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, фенотипическая характеристика, биохимические свойства, объекты санитарного надзора, бактериофаги, схема выделения.

В статье описаны результаты исследований по оптимизации процесса идентификации бактерий *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора. Применяя предложенную нами схему выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, за пятилетний период работы было исследовано 536 пробы. Наибольшее количество штаммов бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* выделено из проб почвы со слабо протекающими процессами минерализации органических веществ, для которых необходим органический азот.

Введение

Бактерии *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* относятся к грамположительным факультативно-анаэробным, подвижным, спорообразующим, палочковидным микроорганизмам, которые широко распространены в объектах санитарного надзора (продуктах животного и растительного происхождения и т.д.) и имеют фенотипические и генетические признаки, сходные с рядом других видов бактерий рода *Bacillus* [1]. В настоящий момент на основании результатов исследования генома внутри рода *Bacillus* была сформирована близкородственная ассоциация бацилл, получившая в литературе название «группа «*Bacillus cereus*» (*Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus anthracis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pseudomycoides*, *Bacillus cytotoxicus* и *Bacillus weihenstephanensis*) [2].

Бактерии *Bacillus mycoides*, открытые Флюгге в 1886 году, почвенные микроорга-

низмы отдела Firmicutes, растущие на агаре как цепочки из клеток, связанных между собой конец в конец, образующие радиальные нити, изогнутые по часовой или против часовой стрелки. И хотя данный вид бацилл современная микробиология относит к сапрофитам, его ближайшие «родственники» являются патогенными для человека (*Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*), животных (*Bacillus anthracis*) и насекомых (*Bacillus thuringiensis*). В то же время ряд авторов, основываясь на результатах молекулярно-генетических методов исследования, предупреждает о широком распространении локусов патогенности, кодирующих энтеротоксины, среди штаммов, формально относящихся к *Bacillus mycoides*. Это относится к генам, кодирующим цитотоксин К (cyt K), одному из трех компонентов энтеротоксина HBL (hblA) и двум компонентам NHE (nheA, dheC) вызывающим проявления диарейного синдрома при пищевой токсикоинфекции [3]. Веро-

ятность пищевого отравления, вызываемого *Bacillus mycoides*, не исключается: вспышки токсикозов, вызванные этим видом бацилл, были зарегистрированы в Канаде и на Тайване, сообщается также о случае эндогенного офтальмита, вызванного *Bacillus mycoides*. Однако чаще всего этот вид контаминирует пищевые продукты, вызывает их порчу [4].

Этиологическая роль *Bacillus cereus* при пищевых отравлениях была изучена и описана Науге в 1950 г. Первоначально выделение *Bacillus cereus* из подозреваемого продукта происходило лишь из образцов, содержащих возбудителя в количестве, превышающем сотни тысяч в 1 г. Попытки выделить данную бактерию из фекалий больных длительное время не имели успеха. Лишь после 1962 года, когда Никодемусом была предложена спиртово-желточная среда для выделения *Bacillus cereus*, его стали почти постоянно выделять из кишечного содержимого людей в случаях пищевых отравлений [5]. В настоящее время для выделения и идентификации *Bacillus cereus* действует ГОСТ 10888.4-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*», ранее, в 1982 году были разработаны «Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных».

Идентификация *Bacillus mycoides* в бактериологических лабораториях на территории Российской Федерации основана на выделении чистой культуры микроорганизма и изучении его биохимических свойств. Этот метод трудоемок и слабо эффективен из-за выраженного полиморфизма ферментативных свойств указанного вида бактерий [6]. За последние 5-7 лет в практике стали широко использовать молекулярно-генетические методы идентификации бацилл, в частности различные модификации ПЦР-анализа, но не всегда результативно [7].

Цель исследования - определить степень распространения бактерий *Bacillus mycoides* и *Bacillus cereus* в объектах санитарного надзора.

Для достижения указанной цели решались следующие задачи:

- изучить на референс-штаммах существующие схемы выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, выявив их возможные недостатки;

- оптимизировать схему выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, вводя дополнительные биохимические тесты;

- с помощью оптимизированной схемы провести анализ распространения *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в объектах санитарного надзора.

Объекты и методы исследований

Штаммы бактерий: *Bacillus mycoides* 537, *Bacillus cereus* 8035, *Bacillus anthracis* (вакцинный штамм СТИ), *Bacillus mesentericus* (pumilus) 66, *Bacillus megaterium* 182, *Bacillus subtilis* 6633, *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, полученные из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВПО «Ульяновская ГСХА им. П.А. Столыпина». Штаммы фагов: 57 изолята бактериофагов *Bacillus cereus*; 8 изолятов бактериофагов *Bacillus mycoides*, выделенные из проб почвы различного хозяйственного назначения Приволжского федерального округа, Южного федерального округа, Центрального федерального округа.

В качестве материалов для исследований использовали объекты санитарного надзора (табл. 4).

Методики: ГОСТ 10888.4-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*» и схема типирования бактерий рода *Bacillus* [8,9,10,11].

Результаты исследований

ГОСТ 10888.4-88 [12] предлагает следующую схему выделения бактерий рода *Bacillus* (рис. 1).

При типировании бактерии рода *Bacillus* по данной схеме возникает ряд трудностей: во-первых, длительность данной работы по причине использования значительного количества биохимических тестов, существующих на момент появления используемого нормативно-технического документа, созданного четверть века назад (рис. 1), а во-вторых, рекомендуемые тесты дают спорный результат, обусловленный таксономическим родством микроорганиз-

Типирование бацилл по ГОСТ 10444.-88

Признаки	Виды бактерий						
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Морфология колоний на МПА	крупные шероховатые колонии			морщинистые	крупные шероховатые колонии	морщинистые	крупные шероховатые колонии
Окраска по Грамму	+	+	+	+	+	+	+
Тест Фогес-Проскауера	+	±	+	+	+	+	+
Лецитиназа	+	-	+	±	+	-	+
Спорообразование	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация маннита	±	±	±	±	±	+	±
Редукция нитратов	+	±	±	+	+	+	+

Примечание – «+» - положительный,
«-» - отрицательный,
«±» - вариабельный признак.

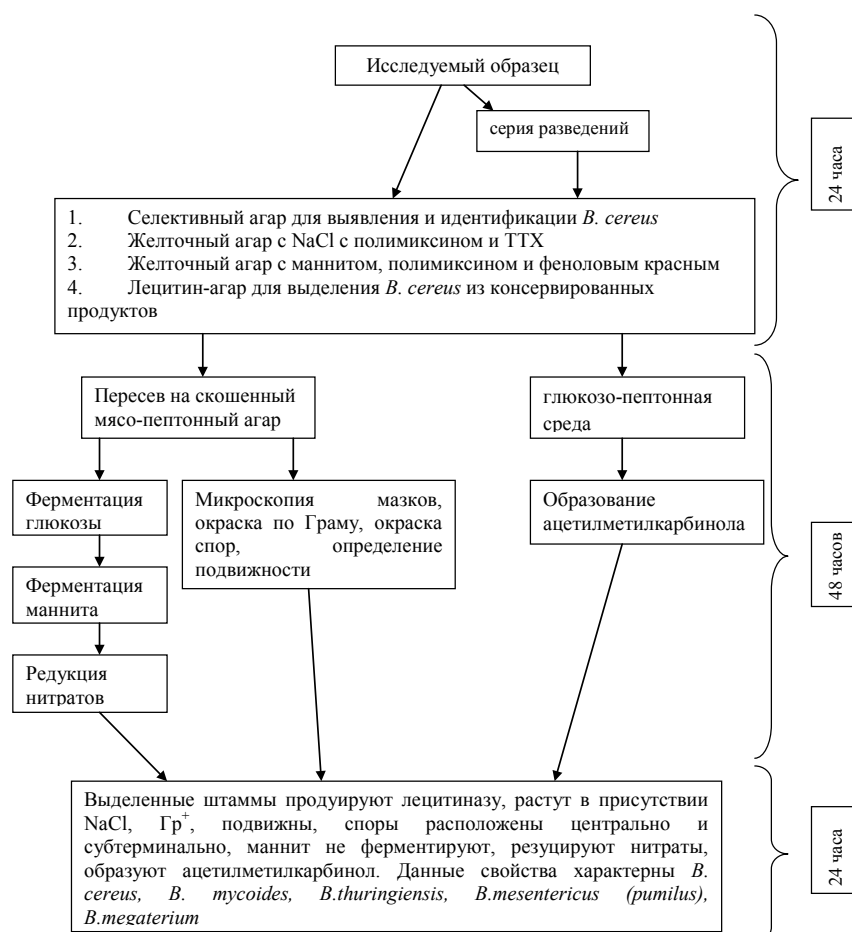


Рис. 1 – Схема выделения по ГОСТ 1044.8-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*»

мов группы «*Bacillus cereus*».

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что при использовании методики ГОСТ 10888.4-88 дифференциация бактерий *Bacillus cereus* не достаточно достоверна даже в пределах рода, не говоря уже о таксономической группе «*Bacillus cereus*». Так, аналогичные свойства характерны как для *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides* и *Bacillus thuringiensis*, так и для *Bacillus mesentericus (pumilus)*, *Bacillus megaterium* (табл. 1). Анализируя полученные данные, можно утверждать, что применение схемы выделения, согласно данному ГОСТу, позволяет достоверно определить в продукте только бактерии *Bacillus subtilis*, для которых характерно отсутствие лецитиназной активности и способности ферментировать маннит.

Схема дифференциации бактерий рода *Bacillus* вклю-

Определения свойств выделенных штаммов бактерий рода *Bacillus* (Gordon, 1973)

Признаки	Виды бактерий						
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Окраска по Граму	+	+	+	+	+	+	+
Наличие глобул	+	+	-	+	+	-	+
Споры эллипсоидные	+	+	-	+	+	+	-
Раздувание спорангиев	-	-	-	-	-	-	-
Образование кристаллов	-	-	-	-	-	-	±
Подвижность	±	±	+	-	-	+	±
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+
Анаэробный рост	+	-	-	+	+	-	+
Реакция Фогес-Проскауера	+	-	+	+	+	+	+
Лецитиназа	+	-	-	+	+	-	+
Устойчивость к лизоциму	+	-	±	+	+	±	+
Рост при 7% NaCl	+	+	+	+	+	+	+
Кислота из глюкозы	+	±	+	+	+	+	+
Кислота из арабинозы	-	±	+	-	-	+	-
Кислота из ксилозы	-	±	+	-	-	+	-
Кислота из маннита	-	+	+	-	-	+	-
Гидролиз крахмал	+	+	-	+	+	+	+
Утилизация цитрата	+	+	+	±	±	+	+
Редукция нитратов	+	±	-	+	+	+	+
Гидролиз казеина	+	+	+	+	+	+	+
Гидролиз тирозина	+	±	-	±	-	-	+

Примечание – «+» - положительные,
«-» - отрицательные,
«±» - переменный признак.

часть в исследование большее количество признаков, чем вышеприведенная методика (табл.2).

По результатам исследований можно сделать вывод, что бактерии рода *Bacillus* (на примере *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus mesentericus* (pumilus), *Bacillus megaterium*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*) имеют сходные биохимические свойства. Провести идентификацию *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides* на основании полученных в рамках данных тестов невозможно.

Таким образом, исследования по методике ГОСТ 1044.8-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*» зани-

мают до 5 суток, схема дифференциации бацилл первой морфологической группы только усложняет идентификацию, но не приводит к улучшению результатов.

Изучив биологические свойства референс-штаммов *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, мы приступили к разработке оптимальной схемы их выделения из объектов санитарного надзора и идентификации. Мы попытались оптимизировать процесс идентификации за счёт поиска отличительных признаков, исключая тесты, приводимые к сходным результатам, и дополнили методами фагоидентификации с применением выделенных и селекционированных спец-

Таблица 3

Предлагаемая идентификационная таблица по наиболее важным видам *Bacillus* с обобщенными свойствами

Признаки	Вид						
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus mesentericus (pumilus)</i>	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Лизис при контакте со специфическими бактериофагами	+	-	-	+	-	-	-
Рост в присутствии лизоцима	+	-	-	+	+	±	+
Анаэробный рост	+	-	-	+	+	-	+
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+
Фосфатаза	+	±	±	-	-	+	+
Тест Фогес-Проскауера	+	-	-	±	+	+	+
Внутриклеточные кристаллы	-	-	-	-	-	-	+
Подвижность	+	±	+	-	-	+	+
Рост при тем. 45 °С	+	+	+	-	-	+	+
Капсулообразование в атмосфере с повышенным содержанием CO ₂	±	±	-	-	±	-	±
Гемолиз	+	-	±	+	-	-	+
Лецитиназа	+	±	-	-	-	-	±
Редукция нитратов до нитритов	+	±	-	+	±	+	+
Утилизация цитрата	+	+	+	±	±	+	+
Расщепление тирозина	+	±	-	±	+	-	±
Казеина	±	-	+	-	+	+	+
Крахмал	+	+	-	+	+	+	+
Мочевина	±	-	-	-	-	+	±
Сероводород	-	-	+	-	-	+	-
Арабиноза	-	+	+	+	-	+	±
Галактоза	-	+	-	-	±	-	-
Мальтоза	+	+	±	+	+	-	+
Манит	-	+	+	-	-	+	-
Раффиноза	-	+	-	-	-	-	-
Ксилоза	-	±	+	-	-	+	-
Галактоза	-	+	-	-	±	-	-
Эскулин	±	-	±	-	-	+	±
Салицин	+	-	-	+	±	+	+

Примечание – «+» - положительный;
«-» - отрицательный;
«±» - переменный признак.

Таблица 4

Источники выделения штаммов бактерий *Bacillus cereus*

№ п/п	Источники выделения	Количество образцов	Количество выделенных штаммов рода <i>Bacillus</i>	Количество выделенных штаммов бактерий <i>Bacillus cereus</i>	Количество выделенных штаммов бактерий <i>Bacillus mycoides</i>
1	Почва	210	198	45	61
2	Вода рек, озера, сточные воды	67	42	18	7
3	Продукты растительного происхождения	46	24	8	4
4	Пряности и приправы	90	61	17	24
5	Молочная продукция	67	28	8	-
6	Мясная продукция	56	45	6	6
Итого:		536	398	102	100

ифических бактериофагов *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, входящих в состав биопрепаратов.

Первоначально оригинальную схему тестировали на искусственно загрязненных объектах санитарного надзора для выявления оптимальных временных и температурных параметров. Разработанная схема выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* включает несколько этапов (рис. 2).

1 этап. Подготовка проб. Исследуемый материал делится на 2 группы в зависимости от того, в какой форме (споровой или вегетативной) находятся бактерии рода *Bacillus*:

- первая группа - почва, продукты питания с явными признаками порчи, пищевые продукты с пониженным содержанием влаги (содержат в основном споровую форму бактерий рода *Bacillus*);

- вторая группа – свежие пищевые продукты, патологический материал, раневой экссудат, экскременты (содержат в основном вегетативную форму бактерий рода *Bacillus*).

Для этого мы делали ряд последовательных десятикратных разведений: 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} . Пробы первой группы прогревали на водяной бане для инактивации посторонней вегетативной формы сопутствующей

щей микрофлоры. Исключения составляют пробы второй группы, так как в них бактерии рода *Bacillus* содержатся в основном в искомой вегетативной форме.

Далее отбирали по 0,2-1,0 см³ содержимого из разведений 10^{-1} - 10^{-4} и переносили по 0,2 см³ в чашки Петри с селективной средой (получение изолированных колоний) и по 1 см³ в пробирки со средой обогащения (выявление наличия).

При высеве на чашки Петри определяли количественный показатель бактериальной контаминации. Среду обогащения с продуктом инкубировали 24 часа при 37 °С, после чего петлей делали посева на селективные среды для получения изолированных колоний.

Для выделения бактерии *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* в качестве селективной среды использовали желточно-солевой агар с добавлением триметоприма и полимиксина (среда Никодемуса), также следующие среды: среда Мозеля (МYP-агар) и аналогичный ей селективный агар РЕМВА – отличие лишь в использовании различных красителей: фенолового красного и бромтимолового синего.

2 этап. Подсчет и пересев типичных колоний. Для видовой идентификации выделенных колоний 5-7 типичных колоний пересевали на скошенный МПА и термостати-

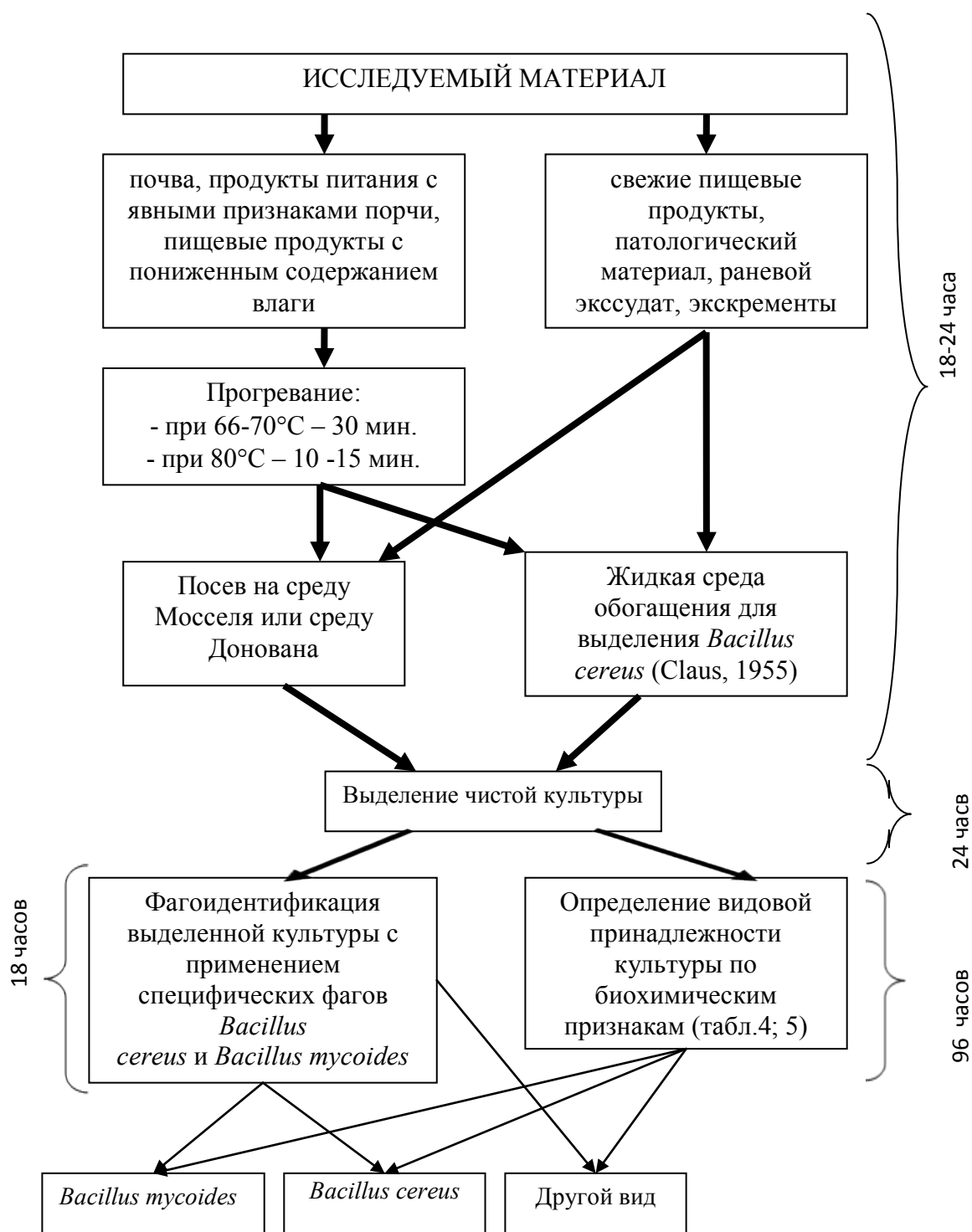


Рис. 2 – Модифицированная схема выделения бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*

ровали 18-24 ч при $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Выделенные культуры типировались по биохимическим и культуральным свойствам (табл. 3-4).

3 этап. Идентификация. В результате анализа литературных данных, а также собственных исследований, нами была сформирована схема с идентификационными тестами, позволяющими с наибольшей до-

стоверностью идентифицировать бактерии до вида.

Для более полной видовой принадлежности все типичные колонии бактерий, выросшие на дифференциально-диагностических средах, пересевали на МПА и МПБ для дальнейшего дифференцирования по всем отобранным нами в ходе исследова-

ний признакам (табл. 3).

Методика фаговой идентификации: на поверхность МПА в первой и второй чашках Петри пастеровской пипеткой наносили 18-24 часовую бульонную культуру исследуемых микроорганизмов. Чашки термостатировали в течение 15-20 минут для подсушивания, а затем, предварительно поделив на 7 секторов первую чашку Петри, на поверхность засеянной среды пастеровской пипеткой в размеченные сектора вносили специфические фаги *Bc* УГСХА в виде капли. На вторую чашку наносили капельно бактериофаги *Bm* УГСХА [13, 14, 15].

Применяя предложенную нами схему выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, включающую 30 биохимических тестов и метод фагоидентификации, характеристику по культуральным свойствам, мы за пятилетний период работы исследовали 536 проб объектов санитарного надзора, полученных в Приволжском и Южном федеральном округах Российской Федерации.

В результате нами было выделено 398 штаммов бактерий рода *Bacillus*: 210 штаммов из почвы; 67 – из воды рек, озер, сточных вод; 46 – из сена и остатков растительного происхождения; 90 – из пряностей и приправ; 67 – из молочной продукции; 56 – из мясной. Из них 102 идентифицировано как *Bacillus cereus* и 100 – *Bacillus mycoides*.

Выводы

Анализируя полученные данные, необходимо отметить, что наибольшее количество штаммов бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* выделено из проб почвы со слабо протекающими процессами минерализации органических веществ, для которых необходим органический азот. В этом проявляется коррелирующая связь физиологии микроорганизмов со свойствами среды их обитания.

Используя систему биохимических тестов, предложенных для типирования в ГОСТ 1044.8-88 и схеме дифференциации бактерий рода *Bacillus*, мы столкнулись с рядом недостатков: во-первых, с проблемой вариабельности биохимических признаков бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides* и, соответственно, с высокой вероятностью

недостовверного результата; во-вторых, с незначительным количеством тестов в идентификационном алгоритме, максимально раскрывающем биологические свойства выделенных штаммов (результаты по предложенным тестам не дают равнозначного результата, так как схожие свойства имеют близкородственные виды). Нами была разработана оригинальная схема выделения и идентификации бактерий *Bacillus cereus* и *Bacillus mycoides*, делящая объекты исследования на 2 группы в зависимости от формы, в которой находится возбудитель (вегетативной или споровой). В данную методику дополнительно были включены среда накопления и ряд тестов на определение биохимических свойств (табл. 3, рис. 2) в соответствии с результатами, полученными в ходе собственных экспериментов.

Чрезвычайное фенотипическое и генетическое сходство бацилл из группы «*Bacillus cereus*» все еще предполагает поиск надежного метода индикации и идентификации названных микроорганизмов [15, 16]. В этой связи вызывает интерес практическое применение бактериофагов в процедуре санитарного биологического контроля продуктов питания. Это подразумевает использование бактериофагов не только в качестве средства профилактики инфекционного процесса животных и сельскохозяйственных культур или деконтаминационной обработке пищевого сырья и оборудования пищевых производств, но и для целей мониторинга бактерий, вызывающих порчу пищевого сырья и токсикоинфекций [17, 18]. Создание отсутствующих на сегодняшний день в Российской Федерации диагностикумов, *Bacillus mycoides* и *Bacillus cereus*, на базе специфических бактериофагов, позволит в сжатые сроки проводить надежную идентификацию и индикацию данного вида бактерий в объектах санитарно-эпидемиологического надзора [19].

Библиографический список

1. Auger, S. Biofilm formation and cell surface properties among pathogenic and non-pathogenic strains of the *Bacillus cereus* group / S. Auger, N. Ramarao, C. Faille [et al.] // Appl.

Environ. Microbiol. – 2009. – V. 10. – P. 1128.

2. Han, C. S. Pathogenomic sequence Analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Isolates Closely Related to *Bacillus anthracis* / C. S. Han, G. Xie, J. F. Challacombe [et al.] // Journal of Bacteriology. – 2006. – V. 188 (900). – P. 3382–3390.

3. Rasko, D.A. Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms / D.A. Rasko, M.R. Altherr, C.S. Han [et al.] // FEMS Microbiol Rev. – 2005. – V. 29. – P. 303–329.

4. Edward, J. B. *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen / J. B. Edward // Clinical Microbiology. – 2010. – V. 23. – P. 382–398.

5. Смирнов, В.В. Спорообразующие аэробные бактерии - продуценты биологически активных веществ / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.А. Василевская. - Киев: Наукова думка, 1982. – 279с.

6. Васильев, Д.А. Идентификация бактерий *Bacillus cereus* на основе их фенотипической характеристики / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин [и др.]. – Ульяновск: ООО «Колор-Принт», 2013. – 98с.

7. Tallent, S. M. Efficient Isolation and Identification of *Bacillus cereus* / S. M. Tallent, K. M. Kotewicz, E. A. Strain [et al.] // Group Journal of AOAC International. – 2012. – Vol. 95. – №. 2. – P. 446-451.

8. Gordon, R. The genus *Bacillus* / R. Gordon // In: Handb. Microbiol. Cleveland (Ohio). - 1973. - V. I. - P. 71-88.

9. Смирнов, В.В. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных / В.В. Смирнов, С.Р. Резник, И.Б. Сорокулова. – Киев: Наукова думка, 1983. – 51с.

10. Полховский, В.А. Биохимические типы *Bacillus cereus*, выделенных из различных природных источников / В.А. Полховский // Журнал микробиология. – 1970. – № 2. – С.82–86.

11. Сидоров, М.А. Определитель зоопатогенных микроорганизмов: справочник / М.А. Сидоров, Д. И. Скородумов, В. Б. Федотов – М.: Колос, 1995. – 318с.

12. ГОСТ 10888.4-88 «Продукты пищевые. Методы определения *Bacillus cereus*» - 8с.

13. Выделение фагов бактерий *Aeromonas hydrophila* и изучение их биологических свойств / Д.А. Викторов, И.Р. Насибуллин, Д.А. Васильев, А.А. Нафеев, И.Г. Швиденко // Вестник ветеринарии. - 2013. - № 3. – С. 8-10.

14. Каврук, Л.С. Роль *Morganella morganii* в этиологии кишечной инфекции телят и поросят / Л.С. Каврук, С.Н. Золотухин, В.Я. Ганюшкин, Д.А. Васильев. – Ульяновск: УГСХА, 1998. – 37с.

15. Soufiane, B. *Bacillus weihenstephansensis* characteristics are present in *Bacillus cereus* and *Bacillus mycoides* strains / B. Soufiane, J-C. Côté // FEMS Microbiol. Lett. - 2013. – V. 341. – P. 127-137.

16. Yakoubou, S. Phylogeny of the Order *Bacillales* inferred from comparisons of 3' end 16S rRNA gene and 5' end 16S-23S ITS nucleotide sequences / S. Yakoubou, D. Xu, J.-C. Côté // Natural Science. – 2010. – V. 2(9). – P. 990-997.

17. Бактериофаги пробиотические средства регуляции микробиоценозов и деконтаминации микроорганизмами продуктов питания, животных и растений / А.В. Алешкин, А.В. Караулов, Э.А. Светоч [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2013. - №3. – С. 80-89.

18. Выделение бактериофагов *Listeria monocytogenes* методом индукции / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Е.В. Сульдина, М.А. Имамов, И.Г. Швиденко // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2013. - № 1. – С.76-80.

19. Васильев, Д.А. Биосенсорная детекция бактерий рода *Bacillus* в молоке и молочных продуктах для предупреждения их порчи / Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин, Н.А. Феоктистова, А.В. Алешкин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2013. - №4 (24). – С. 36-44.