

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

УДК 616.98:579.842.23

Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, О.Л. Старцева, Л.С. Катунина, Д.А. Ковалев, Г.Ф. Иванова,
А.В. Костроминов, А.А. Курилова

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОСНОВ НА РОСТОВЫЕ КАЧЕСТВА ЖИДКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель исследования – изучить влияние экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред на этапе получения биомассы вакцинного штамма чумного микроба глубинным методом. **Материалы и методы.** В работе использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Выращивание проводили в биореакторе объемом 5 л с автоматической регулировкой мешалки. Использовали 28 вариантов питательных сред, полученных путем комбинации пяти видов основ и шести стимуляторов роста. В качестве контрольных использовали питательные среды без добавления ростостимулирующих добавок. В полученной биомассе исследовали параметры: общее количество микробных клеток, pH, процент живых микробных клеток. **Результаты и обсуждение.** На экспериментальных питательных средах методом глубинного культивирования получены биомассы вакцинного штамма чумного микроба. После исследования бактериальных взвесей по основным показателям проведено сравнение качества полученных суспензий в зависимости от используемой питательной среды. Определены наиболее перспективные основы: панкреатический гидролизат казеина с пептоном сухим ферментативным и кислотный гидролизат кукурузной патоки, особенно в сочетании с такими стимуляторами роста, как сульфит натрия, соль Мора или молибденовокислый аммоний.

Ключевые слова: питательная среда, стимулятор роста, оптическая концентрация, жизнеспособность, глубинное культивирование.

Корреспондирующий автор: Абзаева Наталья Вячеславовна, e-mail: chumnpl@yandex.ru.

Для цитирования: Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванова Г.Ф., Костроминов А.В., Курилова А.А. Изучение влияния экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред для глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:71–76. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

Поступила 24.09.2020. Отправлена на доработку 06.11.2020. Принята к публ. 25.02.2022.

N.V. Abzaeva, S.E. Gostishcheva, O.L. Startseva, L.S. Katunina, D.A. Kovalev, G.F. Ivanova,
A.V. Kostrominov, A.A. Kurilova

Studying the Effect of Experimental Bases on the Growth Quality of Liquid Nutritional Media for Submerged Cultivation of Plague Microbe Vaccine Strain

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to investigate the effect of experimental bases on the growth qualities of liquid nutrient media at the stage of obtaining the biomass of plague microbe vaccine strain using submerged cultivation. **Materials and methods.** *Yersinia pestis* EV NIEG vaccine strain was used in the work. The cultivation was carried out in a 5 L bioreactor with automatic stirrer control. We used 28 variants of nutrient media obtained through combining five types of bases and six growth stimulants. Nutrient media without the addition of growth-stimulating additives were used as controls. The following parameters were assessed in the yield biomass: the total number of microbial cells, pH, the percentage of viable microbial cells. **Results and discussion.** On experimental nutrient media, biomasses of the plague microbe vaccine strain have been produced using submerged cultivation. After evaluating bacterial suspensions by the main indicators, the quality of the obtained suspensions has been compared depending on the nutrient medium used. The most promising bases identified are pancreatic hydrolyzate of casein with dry enzymatic peptone and acid hydrolyzate of corn syrup, especially in combination with such growth stimulants as sodium sulfite, ferrous ammonium sulfate or ammonium molybdate.

Key words: nutrient medium, growth stimulant, optical concentration, viability, submerged cultivation.

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

Corresponding author: Natal'a V. Abzaeva, e-mail: chumnpl@yandex.ru.

Citation: Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. Studying the Effect of Experimental Bases on the Growth Quality of Liquid Nutritional Media for Submerged Cultivation of Plague Microbe Vaccine Strain. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:71–76. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

Received 24.09.2020. Revised 06.11.2020. Accepted 25.02.2022.

Abzaeva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7418-9673>
Gostishcheva S.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9891-3665>
Startseva O.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-5296>
Katunina L.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8774-101X>

Kovalev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>
Ivanova G.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6127-6738>
Kostrominov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2228-5038>
Kurilova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7105-9961>

Для производства лекарственного препарата вакцины чумной живой продуктивным и технологичным методом получения биомассы, позволяющим управлять процессом, является глубинное культивирование на жидких питательных средах [1, 2].

Технология выпускаемого в настоящее время препарата чумной вакцины состоит из четко регламентированных этапов, одним из которых является поверхностное культивирование на плотной питательной среде в ферментере (АКМ-Ш) в течение (48 ± 2) ч. Ранее в производстве использовали также метод глубинного культивирования на бульонных питательных средах в реакторе, однако сложность обслуживания оборудования в процессе выращивания (коррекция параметров оператором вручную, постоянный отбор проб) способствовала исключению способа из биотехнологического процесса.

Использование ферментеров нового поколения позволяет стандартизировать условия промышленного культивирования в бульоне, возможность автоматической коррекции параметров процесса обеспечивает высокую производительность наряду с возможностью управления кинетикой роста популяции [2–4]. Культивирование биомассы глубинным способом в ферментере проводится с аэрированием бульона, постоянным его барботированием и периодическим введением раствора глюкозы в качестве подкормки. Важным фактором улучшения производительности процесса является питательная среда для культивирования, которая обеспечивает микроорганизмы необходимыми для роста и размножения белками, макро- и микроэлементами [5–7].

В настоящее время среды из ферментативного гидролизата Хоттингера используются в производстве вакцины для получения генераций чумного микроба, накопления биомассы и выпускающего контроля [8, 9]. Однако среда на основе мяса, даже при полном соответствии ее качественных параметров существующим нормам, не всегда обеспечивает достаточное количество получаемой биомассы. Поэтому исследования в области подбора, изготовления и применения новых питательных сред, позволяющих увеличить конечный выход продукта, всегда актуальны.

Известно, что чумной микроб не предъявляет строгих требований ни к условиям культивирования, ни к питательным средам, но активно реагирует на наличие в среде стимуляторов роста. При этом влияние того или иного стимулятора или группы стимуляторов на рост чумного микроба зависит от природы белковой основы питательной среды [10].

В качестве основ питательных сред для выращивания чумного микроба предлагались гидролизаты различных субстратов: казеина, сои, кукурузы, рыбы, дрожжей и прочих – как животного, так и рас-

тительного происхождения [11–14]. Литературные данные о стимуляторах роста микроорганизмов также многочисленны [15–22]. Модифицированные питательные среды с использованием нетрадиционных основ в совокупности со стимулирующими компонентами могут способствовать наращиванию достаточных объемов бактериальной массы с сохранением культуральных и биохимических свойств микроорганизма. Подбор эффективных питательных сред является подготовительным этапом планируемого возвращения в производство чумной вакцины глубинного аппаратного культивирования и может выполняться до начала мероприятий по переносу стадии разработки в промышленное производство.

Для отработки биотехнологии производства вакцины чумной живой с использованием глубинного культивирования необходимо изучение ростовых качеств жидких питательных сред с ростостимулирующими добавками, способствующих получению бактериальной массы, не уступающей по качеству полученной на плотных средах в АКМ-Ш.

Цель исследования – изучить влияние экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред на этапе получения биомассы вакцинного штамма чумного микроба глубинным методом.

Материалы и методы

В работе использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (депонирован в ГКПМ III–IV групп патогенности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России под № 910301).

В опыте использовали 28 вариантов питательных сред, полученных путем комбинации пяти видов основ и шести стимуляторов роста. Перед использованием все питательные среды контролировали по физико-химическим и биологическим показателям в соответствии с МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза». Приготовление и контроль сред проводили в лаборатории питательных сред Ставропольского противочумного института.

В качестве контрольных использовали питательные среды без добавления ростостимулирующих добавок (только основы со стабилизирующими компонентами).

Выращивание проводили в биореакторе BIOSTAT A (SARTORIUS, Германия) объемом 5 л с автоматической регулировкой мешалки. Для засева использовали посевную культуру, изготовлен-

ную путем последовательных пересевов на этапах I, II и III генерации вакцинного штамма согласно Промышленному регламенту на производство вакцины чумной живой ПР 01897080-09-16, при этом посевная доза составляла не менее 20 млн м.к. на 1 мл питательной среды. Культивировали 16–18 ч при $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$, непрерывной аэрации, подкормке 40 % раствором глюкозы. Величину pH поддерживали на уровне 7,0–7,4. Через 10 ч выращивания и в последующем каждые 2 ч отбирали пробы для определения количества микробных клеток. При наступлении стационарной фазы (прекращение нарастания оптической концентрации микробной взвеси и сохранение pH на одном уровне) процесс культивирования останавливали.

Каждый вариант опыта проводили в трехкратном повторе.

В полученной биомассе определяли количество микробных клеток по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц соответствующего года выпуска (регламентируемый показатель – не менее 50 млрд/мл), pH (регламентируемый показатель – от 6,8 до 7,8), процент живых микробных клеток (регламентируемый показатель – не менее 25,0 %).

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Использование компонентов питательных сред в различных вариантах позволило провести оценку их сочетанного влияния на качественные характеристики полученных биомасс. В качестве основы использовали один из следующих компонентов: ферментативный гидролизат говяжьего мяса (ФГГМ или Хоттингера); панкреатический гидролизат казеина с пептоном сухим ферментативным; казеиново-пептонный гидролизат с добавлением сои; питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой на основе гидролизата говяжьего мяса (ГМФ); кислотный гидролизат кукурузной патоки.

Для приготовления питательных сред в бульон на основе гидролизата (одного из перечисленных) добавляли один из стимуляторов роста: натрий сернистокислый (сульфит натрия); аммоний молибденовокислый; соль Мора; стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СГМ); ТВИН-20; ТВИН-80 в следующих количествах:

- натрий сернистокислый из расчета 350 мг/л;
- аммоний молибденовокислый из расчета 50 мг/л;
- соль Мора из расчета 10 мг/л;
- стимулятор роста гемофильных микроорганизмов из расчета 5 г/л;
- ТВИН-20 из расчета 0,45 мл/л;
- ТВИН-80 из расчета 0,45 мл/л.

Таким образом, в каждой экспериментальной питательной среде изучалось сочетанное влияние комбинации используемой основы с одним из предлагаемых стимуляторов.

По окончании культивирования из каждой полученной биомассы отбирались пробы для дальнейшего исследования. После проведения контроля по показателям общей и биологической (количество живых микробных клеток) концентрации и сравнения полученных данных определено, что количество микробных клеток существенно различается при различных сочетаниях основ и ростостимулирующих добавок.

В испытанных средах наиболее перспективной основой оказался бульон на основе панкреатического гидролизата казеина с пептоном сухим ферментативным. В сочетании с различными стимуляторами роста, такими как сульфит натрия, соль Мора или молибденовокислый аммоний, прирост биомассы составлял 12,7; 12,3 и 13,0 млрд м.к./мл соответственно, при этом процент жизнеспособных клеток в полученной суспензии находился в интервале 30,0–33,3 % (таблица).

Дальнейший анализ полученных данных показал, что среды на основе кукурузного гидролизата также обеспечивают достаточный выход биомассы, особенно в сочетании с солью Мора – 10,3 млрд м.к./мл и 38,2 % живых м.к.

Среды на основе казеиново-пептонного гидролизата с добавлением сои срабатывали только с добавлением аммония молибденовокислого или соли Мора, в остальных случаях полученная бактериальная масса имела концентрацию менее 9 млрд м.к./мл с достаточно низкой жизнеспособностью.

Биомасса, полученная на бульоне Хоттингера (ФГГМ) и ГМФ-бульоне, также не отличалась большим содержанием микробных клеток, при этом во втором случае обладала еще и очень низкими показателями жизнеспособности (8,3–12,6 %).

Что касается ростостимулирующих добавок, то, несмотря на разнообразие комбинаций «основа×добавка», выявляются некоторые закономерности.

Так, ТВИН-20, как и ТВИН-80, несмотря на возможность применения их в качестве компонента обогащения питательных сред, не обеспечили достаточного прироста биомассы.

Соль аммония, как и соль Мора, почти во всех вариантах позволяли получить биомассу хорошего качества с показателями выше, чем при применении остальных стимуляторов, исключением стала комбинация с ГМФ-бульоном. При этом в динамике роста стационарная фаза наступала на 2 ч раньше, чем при применении остальных стимуляторов.

Использование сульфита натрия, применяемого в данное время в биотехнологии производства чумной вакцины в качестве регламентированного стимулятора роста, в очередной раз позволило подтвердить его действенность. Показатели биомасс, полученных

Влияние стимуляторов роста на основные показатели качества биомассы вакцинного штамма чумного микроба
Effect of growth stimulators on biomass quality indicators of plague microbe vaccine strain

Основа / Medium	Стимулятор / Stimulator	Общее кол-во м.к., млрд/мл Total content of microbe cells, billion/ml	pH	Жизнеспособность, % Viability, %
ФГТМ / Beef enzymatic hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	6,0±0,1	6,7±0,1	28,9±2,2
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	7,0±0,3	6,6±0,1	39,6±3,1
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	3,3±0,1	6,3±0,1	19,4±0,9
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	8,0±0,3	6,5±0,1	32,2±1,7
	Контроль / Control	5,0±0,1	6,5±0,1	20,5±2,9
Казеин+пептон / Casein+peptone	Сульфит натрия / Sodium sulfite	12,7±1,0	6,8±0,1	30,0±3,5
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdenum acid	13,0±0,8	6,6±0,1	33,3±4,0
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	12,3±1,0	6,6±0,1	32,1±2,5
	Твин-20 / Tween 20	6,6±0,1	6,6±0,1	9,8±1,1
	Твин-80 / Tween 80	9,0±0,1	6,4±0,1	12,8±0,9
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	8,3±0,5	6,8±0,1	18,0±3,3
	Контроль / Control	8,2±5,0	6,5±0,1	22,4±2,5
Казеин+пептон+соя / Casein+peptone+soy	Сульфит натрия / Sodium sulfite	5,6±0,3	7,3±0,1	28,1±2,0
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	10,3±0,8	7,1±0,1	28,1±0,6
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	9,7±1,1	7,1±0,1	35,7±1,8
	Твин-20 / Tween 20	5,3±0,9	7,2±0,1	18,4±1,6
	Твин-80 / Tween 80	6,0±0,1	7,2±0,1	20,1±2,3
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,0±0,2	7,2±0,1	7,3±0,2
	Контроль / Control	8,7±0,2	7,2±0,1	33,3±0,9
ГМФ / Beef hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	7,3±0,2	5,1±0,1	8,5±1,1
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdenum acid	6,0±2,0	5,1±0,1	11,6±0,7
	Твин-20 / Tween 20	7,0±0,5	5,1±0,1	11,5±0,1
	Твин-80 / Tween 80	7,0±1,0	5,1±0,1	12,6±1,4
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,2±0,8	5,4±0,1	10,0±1,3
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	8,5±0,4	5,1±0,1	8,3±1,6
	Контроль (без стимуляторов) / Control (without stimulants)	7,0±0,9	5,1±0,1	8,5±0,8
Кукурузный гидролизат / Corn hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	8,7±0,1	6,8±0,1	37,1±2,2
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	9,9±0,2	6,7±0,1	38,7±1,2
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	10,3±0,5	6,7±0,1	38,2±0,9
	Твин-20 / Tween 20	4,0±0,1	6,7±0,1	6,5±0,1
	Твин-80 / Tween 80	5,0±0,1	6,7±0,1	6,0±0,5
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,5±1,3	6,7±0,1	8,4±0,2
	Контроль / Control	7,0±0,1	6,7±0,1	26,5±0,9

с применением данного стимулятора, находились на среднем уровне как по общей, так и по биологической концентрации.

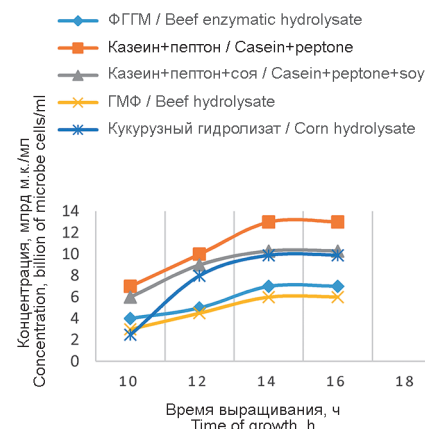
Биомасса, полученная с использованием стимулятора роста гемофильных микроорганизмов (СГМ), отличалась слишком низкой для дальнейшего использования жизнеспособностью, и лишь в одном опыте ее выход составил 8,3 млрд м.к./мл (рисунок).

Таким образом, сочетание ростостимуляторов с различными питательными основами позволяет подбирать оптимальные комбинации основных ком-

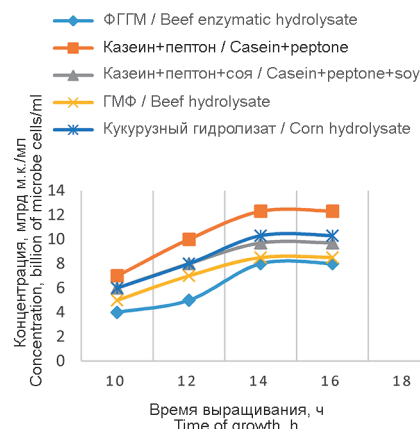
понентов, что расширяет область выбора при отработке биотехнологии глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба.

Проведенные исследования показали, что применение ростостимулирующих добавок позволяет влиять на качество получаемой биомассы, а питательные среды на основе казеина или кукурузного гидролизата в сочетании со стимуляторами являются альтернативой традиционному бульону Хоттингера. Изучение параметров бульонной культуры, полученной на различных питательных средах, позволит

Аммоний молибденовокислый Ammonium molybdate



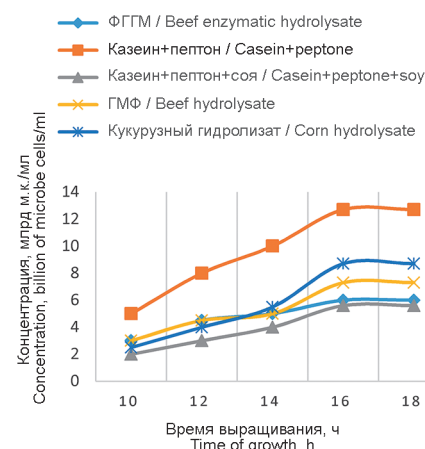
Соль Мора Ferrous ammonium sulfate



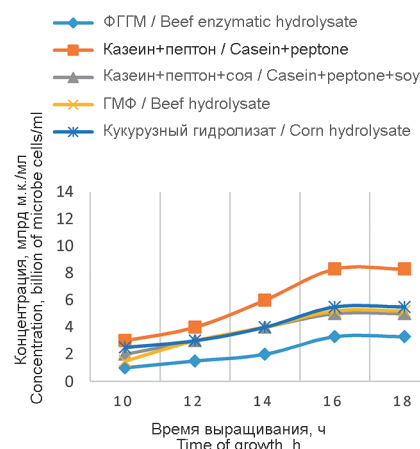
Динамика накопления микробных клеток штамма *Yersinia pestis* EV при глубинном выращивании в зависимости от применяемых стимуляторов роста

Dynamics of accumulation of *Yersinia pestis* EV microbial cells during submerged cultivation depending upon the used growth stimulants

Сульфит натрия Sodium sulfite



CGM Hemophilic microorganism growth stimulant



внедрить в производство глубинный метод культивирования как альтернативный способ получения препарата чумной вакцины.

Дальнейшие исследования будут направлены на всестороннее изучение экспериментальных серий вакцины, полученной на апробированных жидких питательных средах методом глубинного культивирования.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

- Еремич С.А., Волох О.А., Шепелев И.А., Дальвадьянц С.М., Дятлов И.А. Разработка новых технологических схем и масштабирование процессов получения антигенов чумного и тулярийного микробов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2006; 92:58–61.
- Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Мохов Д.А., Логвинов С.В., Крупин В.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Бирюков В.В. Оптимизация процесса концентрирования микробных клеток в технологии чумных вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019; 19(1):50–5. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55.
- Зайцев В.В., Дремач Г.Э., Зайцева А.В., Сафроненко Л.В., Тункель В.С. Экспериментальные данные по культивированию некоторых бактерий в газовых биореакторах «Биок». *Коммерческая биотехнология*. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cbio.ru/page/43/id/3500/>.
- Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Мохов Д.А., Крупин В.В., Зиганшин А.Р.

Совершенствование технологии производства вакцины чумной живой. *Вестник войск РХБ защиты*. 2017; 1(3):30–7.

5. Каминский Д.И., Лобанов В.В., Рожков К.К., Мазрухо А.Б. Совершенствование питательных сред для выращивания некоторых возбудителей опасных инфекционных заболеваний. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 2:104–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-104-110.

6. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2008. С. 37–8.

7. Держинская И.С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов: учебное пособие. Астрахань: Изд-во АГТУ; 2008. 236 с.

8. Шепелин А.П., Миронов А.Ю., Шепелин К.А. Питательные среды. Справочник бактериолога. М.: Эпидбиомед-диагностика; 2015. 194 с.

9. Ахапкина И.Г., Блинкова Л.П. Питательные среды как искусственная среда роста и развития микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2001; 6:99–104.

10. Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Питательные среды для диагностики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 4:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-60-65.

11. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К., Круликов В.Д. Сравнительная оценка белковых гидролизатов при создании на их основе универсальной питательной среды для диагностики чумы и холеры. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 6:46–8.

12. Трошкова Г.П., Мазуркова Н.А., Сумкина Т.П., Мартынец Л.Д., Шишкина Л.Н., Карабинцева Н.О. Технология получения гидролизата сои с использованием протеолитического фермента бромелаина и оценка ростовых свойств питательной среды на его основе для перевиваемых культур клеток. *Современные наукоемкие технологии*. 2010; 1:45–7.

13. Van Eys J.E. Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry. 2nd ed. Chesterfield: USSEC; 2012. 104 p.

14. Гостищева С.Е., Катунина Л.С., Курилова А.А., Абзаева Н.В., Ковтун Ю.С., Жаринова Н.В., Коняева О.А., Жилченко Е.Б., Куличенко А.Н. Применение плотной питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного в производстве вакцины чумной живой и для хранения штаммов чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.
 15. Сизоненко М.Н., Тимченко Л.Д., Ржепаковский И.В. Влияние нового стимулятора роста микроорганизмов «СРМП» на биологические свойства *Listeria monocytogenes* вакцинный штамм «АУФ». *Аллергология и иммунология*. 2013; 14(3):198.
 16. Pallah O.V., Meleshko T.V., Bati V.V., Boyko N.V. Extracts of edible plants stimulators for beneficial microorganisms. *Biotechnologia Acta*. 2019; 12(3):67–74. DOI: 10.15407/biotech12.03.067.
 17. Анганова Е.В., Мирскова А.Н., Савченков М.Ф., Духанина А.В., Адамович С.Н., Мирсков Р.Г., Крюкова Н.Ф. Использование биологически активных соединений в качестве стимуляторов роста стафилококков. *Сибирский медицинский журнал*. 2014; 125(2):75–9.
 18. Адамович С.Н., Федосеев А.П., Киборт Р.В., Мирсков Р.Г., Мирскова А.Н. Перспективные стимуляторы повышения выхода бактериальной массы *Staphylococcus aureus* (для получения протейна А). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 5-1:173–6.
 19. Ломова Н.Н., Снежко О.О., Наризный С.А. Биомасса *Streptococcus thermophilus* и *Bifidobacterium longum* в молочной среде с пчелиной обножкой. *Biotechnologia Acta*. 2015; 8(1):71–5. DOI: 10.15407/biotech8.01.071.
 20. Лукьянова С.В., Gefan N.G., Адамович С.Н., Оборина Е.Н., Хаптанова Н.М., Кузнецов В.И., Остык А.С., Косилко В.С., Балахонов С.В. Изучение действия биологически активного соединения трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилсульфанилацетата на рост бактерий *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(1):47–53. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.1.6.
 21. Чичерина В.Р., Сапрыкина Е.Ю. Влияние тяжелых металлов на рост бактерий рода *Bacillus*. *Шаг в науку*. 2016; 1:119–25.
 22. Мирскова А.Н., Адамович С.Н., Виноградов Е.Я., Мирсков Р.Г. Стимуляторы роста менингококка для диагностики менингита на основе солей 2-гидроксикалциамин. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 5-1:276–80.
- ## References
1. Eremin S.A., Volokh O.A., Shepelev I.A., Dalvadyants S.M., Dyatlov I.A. [Development of new technological schemes and scaling up the processes for obtaining antigens of plague and tularemia microbes]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2006; (92):58–61.
 2. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Krupin V.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Biryukov V.V. [Optimization of concentrating microbial cells in the technology of plague vaccines]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [BioPreparations. Prevention, Diagnosis, treatment]*. 2019; 19(1):50–5. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55.
 3. Zaitsev V.V., Dremach G.E., Zaitseva A.V., Safronenko L.V., Tunkel' V.S. [Experimental data on the cultivation of some bacteria in the gas-vortex bioreactor "Biok"]. *Kommercheskaya Biotehnologiya [Commercial Biotechnology]*. [Internet]. Available from: <http://www.cbio.ru/page/43/id/3500/>.
 4. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Mokhov D.A., Krupin V.V., Ziganshin A.R. [Improving the technology of production of live plague vaccine]. *Vestnik Voisk RKhB Zashchity [Bulletin of the RCB Protection Troops]*. 2017; 1(3):30–7.
 5. Kaminsky D.I., Lobanov V.V., Rozhkov K.K., Mazrukho A.B. [Improvement of nutrient media for growing some pathogens of dangerous infectious diseases]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2017; (2):104–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-104-110.
 6. Polyak M.S., Sukharevich V.I., Sukharevich M.E. [Nutrient Media for Medical and Sanitary Microbiology]. St. Petersburg; 2008. P. 37–8.
 7. Dzerzhinskaya I.S. [Nutrient Media for Isolation and Cultivation of Microorganisms: a Tutorial]. Astrakhan: Astrakhan State Technical University; 2008. 236 p.
 8. Shepelin A.P., Mironov A.Yu., Shepelin K.A. [Nutrient Media. Reference Book of the Bacteriologist]. Moscow: Epidbiomeddiagnostics; 2015. 194 p.
 9. Akhapkina I.G., Blinkova L.P. [Nutrient media as an artificial environment for the growth and development of microorganisms]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2001; (6):99–104.
 10. Domotenko L.V., Podkopaev Ya.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Nutrient media for plague diagnostics]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (4):60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-60-65.
 11. Mazrukho A.B., Kaminsky D.I., Lomov Yu.M., Telesmanich N.R., Rozhkov K.K., Kruglikov V.D. [Comparative assessment of protein hydrolysates while creating a universal nutrient medium on their basis for the diagnosis of plague and cholera]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2011; (6):46–8.
 12. Troshkova G.P., Mazurkova N.A., Sumkina T.P., Martynets L.D., Shishkina L.N., Karabintseva N.O. [Technology for the production of soy hydrolyzate using the proteolytic enzyme bromelain and evaluation of the growth properties of the nutrient medium based on it for continuous cell cultures]. *Sovremennye Naukoemkie Tekhnologii [Modern High Technology]*. 2010; (1):45–7.
 13. Van Eys J.E. Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry. 2nd ed. Chesterfield: USSEC; 2012. 104 p.
 14. Gostishcheva S.E., Katunina L.S., Kurilova A.A., Abzaeva N.V., Kovtun Yu.S., Zharinova N.V., Konyaeva O.A., Zhilchenko E.B., Kulichenko A.N. [Usage of solid medium on the basis of corn-steep extract hydrolysate in manufacturing of live plague vaccine and for plague agent strain preservation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (1):75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.
 15. Sizonenko M.N., Timchenko L.D., Rzhepakovsky I.V. [Effect of the new microorganism growth stimulant "MGSP" on the biological properties of *Listeria monocytogenes* vaccine strain "AUF"]. *Allergologiya i Immunologiya [Allergology and Immunology]*. 2013; 14(3):198.
 16. Pallah O.V., Meleshko T.V., Bati V.V., Boyko N.V. Extracts of edible plants stimulators for beneficial microorganisms. *Biotechnologia Acta*. 2019; 12(3):67–74. DOI: 10.15407/biotech12.03.067.
 17. Anganova E.V., Mirskova A.N., Savchenkov M.F., Dukhanina A.V., Adamovich S.N., Mirskov R.G., Kryukova N.F. [The use of biologically active compounds as staphylococci growth stimulants]. *Sibirsky Meditsinsky Zhurnal [Siberian Medical Journal]*. 2014; 125(2):75–9.
 18. Adamovich S.N., Fedoseev A.P., Kibort R.V., Mirskov R.G., Mirskova A.N. [Promising stimulants for increasing the yield of *Staphylococcus aureus* bacterial mass (for obtaining protein A)]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; (5-1):173–6.
 19. Lomova N.N., Snejzko O.O., Narizhny S.A. [The biomass of *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium longum* in dairy medium with bee pollen]. *Biotechnologia Acta*. 2015; 8(1):71–5. DOI: 10.15407/biotech8.01.071.
 20. Luk'yanova S.V., Gefan N.G., Adamovich S.N., Obrina E.N., Khaptanova N.M., Kuznetsov V.I., Ostyak A.S., Kosilko V.S., Balakhonov S.V. [Study of the effect of a biologically active compound tris(2-hydroxyethyl)ammonium 4-chlorophenylsulfanylate on the growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(1):47–53. (In Russ.) DOI: 10.29413/ABS.2020-5.1.6.
 21. Chicherina V.R., Saprykina E.Yu. [Effect of heavy metals on the growth of bacteria of the genus *Bacillus*]. *Shag v Nauku. [Step into Science]*. 2016; (1):119–25.
 22. Mirskova A.N., Adamovich S.N., Vinogradov E.Ya., Mirskov R.G. [Meningococcus growth stimulants based on salts of 2-hydroxyalkylamines for the diagnosis of meningitis]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; (5-1):276–80.
- Authors:**
Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.
- Об авторах:**
Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванова Г.Ф., Костроминов А.В., Курилова А.А. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.