



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12N 1/20 (2023.05)

(21)(22) Заявка: 2023100197, 09.01.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.01.2023

Дата регистрации:
26.09.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.01.2023

(45) Опубликовано: 26.09.2023 Бюл. № 27

Адрес для переписки:

656049, г. Барнаул, пр. Ленина, 61, ФГБОУ ВО
"Алтайский государственный университет",
ЦРТПТТУИС

(72) Автор(ы):

Малкова Ангелина Владимировна (RU),
Ирkitова Алена Николаевна (RU),
Евдокимов Иван Юрьевич (RU),
Ширманов Максим Вячеславович (RU),
Дудник Дина Евгеньевна (RU),
Каргашилова Екатерина Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Алтайский государственный
университет" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: ЗАБОКРИЦКИЙ Н.А. Фармако-
микробиологические аспекты разработки,
конструирования и создания
экспериментального образца
биогепатопротектора, Здоровье и образование
в XXI веке, 2014, т. 16. N 3., с. 81-85. RU 2246537
C2, (ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ
ОБЩЕСТВО "КУЛ" (RU)), 20.02.2020. MIRAY
E.B., et al, Effects of two host-associated
probiotics *Bacillus* (см. прод.)

(54) Штамм бактерий *Bacillus mojavensis* RCAM05965, обладающий антагонистической активностью по отношению к *Candida albicans*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* и перспективный для производства пробиотика для человека и/или животных

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии. Изобретение представляет собой штамм бактерий *Bacillus mojavensis*, обладающий антагонистическим действием против условно-патогенных для человека и животных микроорганизмов: *Candida albicans*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, задепонирован в Сетевой биоресурсной коллекции в области

генетических технологий для сельского хозяйства (RCAM) под регистрационным номером RCAM05965. Штамм бактерий *Bacillus mojavensis* RCAM05965 может быть использован для разработки пробиотиков для человека и животных с целью профилактики от грибных и бактериальных инфекций. 1 ил., 3 табл., 3 пр.

RU 2 804 275 C1

RU 2 804 275 C1

(56) (продолжение):

mojavensis B191 and *Bacillus subtilis* MRS 11 on growth performance, intestinal morphology, expression of immune-related genes and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against Streptococcinae *Developmental and Comparative Immunology*, 2023.-Vol. 138.-Ar. 104553. doi: 10.1016/j.dci.2022.104553.

R U 2 8 0 4 2 7 5 C 1

R U 2 8 0 4 2 7 5 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C12N 1/20 (2023.05)

(21)(22) Application: **2023100197, 09.01.2023**

(24) Effective date for property rights:
09.01.2023

Registration date:
26.09.2023

Priority:

(22) Date of filing: **09.01.2023**

(45) Date of publication: **26.09.2023** Bull. № 27

Mail address:

**656049, g. Barnaul, pr. Lenina, 61, FGBOU VO
"Altajskij gosudarstvennyj universitet",
TSRTPTTUIS**

(72) Inventor(s):

**Malkova Angelina Vladimirovna (RU),
Irkutova Alena Nikolaevna (RU),
Evdokimov Ivan Yurevich (RU),
Shirmanov Maksim Vyacheslavovich (RU),
Dudnik Dina Evgenevna (RU),
Kargashilova Ekaterina Nikolaevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Altajskij gosudarstvennyj
universitet" (RU)**

(54) **BACILLUS MOJAVENSIS RCAM05965 BACTERIAL STRAIN WITH ANTAGONISTIC ACTIVITY AGAINST CANDIDA ALBICANS, SERRATIA MARCESCENS, ESCHERICHIA COLI AND PROMISING FOR THE PRODUCTION OF A PROBIOTIC FOR HUMANS AND/OR ANIMALS**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention is a strain of *Bacillus mojavensis* bacteria, which has an antagonistic effect against the following opportunistic microorganisms for humans and animals: *Candida albicans*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli* deposited in the Network Bioresource Collection in the field of genetic

technologies for agriculture (RCAM) under registration number RCAM05965.

EFFECT: *Bacillus mojavensis* RCAM05965 bacterial strain can be used to develop probiotics for humans and animals to prevent fungal and bacterial infections.

1 cl, 1 dwg, 3 tbl, 3 ex

C 1
2 8 0 4 2 7 5
R U

R U
2 8 0 4 2 7 5
C 1

Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, в частности касается нового природного штамма бактерий вида *Bacillus mojavensis* в качестве действующего компонента для разработки пробиотика, направленного на профилактику грибных и бактериальных инфекций человека и животных.

5 Пробиотиками называются препараты или продукты, содержащие живые полезные для макроорганизма микроскопические организмы. Если первоначально в качестве пробиотических компонентов в основном использовали бактерий родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, то в XXI пул применяемых безопасных и эффективных микроорганизмов был расширен за счет грибов рода *Saccharomyces*, бактерий рода
10 *Bacillus* и пр. Бациллы являются перспективными претендентами для разработки пробиотиков, так как почти все виды безопасны для человека и животных, обладают выраженными антагонистическими свойствами и характеризуются высокой биохимической активностью. В качестве их преимущества перед молочнокислыми бактериями можно рассматривать способность к спорообразованию, что увеличивает
15 сохранность препаратов на их основе. Самым часто используемым видом для пробиотиков является *Bacillus subtilis* [1-4], но селекция новых штаммов и видов бацилл остается актуальной по сей день для поддержания эффективности уже существующих и разработки новых пробиотиков, удовлетворяющих меняющимся условиям среды и взаимоотношениям между живыми организмами.

20 Известен штамм *B. subtilis* subsp. *subtilis* ВКМ В-2711D, который характеризуется антагонистическим действием против *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, а также резистентностью к стрептомицину и тетрациклину [5]. Однако для данного штамма не установлена антагонистическая активность по отношению к грибным патогенам животных и человека, например, *C. albicans*. Кроме
25 того, данный штамм может передать устойчивость к ряду антибиотиков патогенным микроорганизмам в результате горизонтального переноса генов.

Ранее был запатентован штамм из группы *B. subtilis* вида *B. licheniformis* ВКМ В-2713D, обладающий антагонизмом по отношению к *S. typhi*, *St. aureus*, *L. monocytogenes* и устойчивостью к стрептомицину и налидиксовой кислоте [6]. Однако для данного
30 штамма не была зафиксирована антагонистическая активность по отношению к *E. coli*, и он также способен передать гены резистентности к некоторым антибиотикам.

Известен штамм *B. subtilis* ТРАХС - КМ-117, который проявляет антагонистическую активность по отношению к патогенным бактериям для животных и обладает
множественной лекарственной резистентностью [7]. Однако для данного штамма не
35 установлена антимикробная активность по отношению к условно-патогенным микроорганизмам, и он не является природным, а получен в ходе рекомбинаций. Известен штамм *B. subtilis* ВКМ В-2287, который проявляет антагонистическую активность против бактериальных и грибных патогенов животных и используется для получения пробиотика [8]. Однако при хранении на скошенном агаре данный штамм
40 необходимо пересевать не реже 1 раза в 2 месяца, и препаративная форма пробиотика на его основе - культуральная жидкость, которая менее стойка при хранении, чем лиофилизированный концентрат.

Вид *B. mojavensis* относится к группе *B. subtilis*. Следовательно, он тоже перспективен для разработки эффективных и безопасных микробных биопрепаратов. Зарубежными
45 и отечественными учеными активно изучаются антагонистические свойства *B. mojavensis* по отношению к фитопатогенным микроорганизмам и создаются биологические средства защиты растений на их основе [9-14]. Однако антагонизм *B. mojavensis* по отношению к патогенам человека и животных, как и перспективность применения

данных бактерий при производстве пробиотиков изучены недостаточно. Известно лишь несколько исследований зарубежных авторов в этом направлении [15-17].

В качестве прототипа был выбран штамм *B. subtilis* B-2895 с известной антагонистической активностью по отношению к условно-патогенным микроорганизмам человека и животных [18].

Задачей изобретения является получение нового штамма *B. mojavensis*, характеризующегося антагонистическим действием против *C. albicans*, *S. marcescens*, *E. coli* и перспективного для производства пробиотика для человека и/или животных в сухом виде. Задача решается путем выделения нового штамма *B. mojavensis* RCAM05965 из ризосферы рода *Chelidonium* и определением его антибиотикорезистентности, антагонистических и биотехнологически-ценных свойств.

Технический результат, получаемый от применения предлагаемого штамма, заключается в разработке нового пробиотического препарата для человека и/или животных с целью повышения их продуктивности и профилактики инфекционных заболеваний, а также экологизации сельского хозяйства.

Описание изобретения

1. Выделение заявленного штамма

Предлагаемый штамм *B. mojavensis* RCAM05965 был выделен из ризосферы р. *Chelidonium*, произрастающего в Алтайском крае, г. Бийск, осенью 2018 года. Летом 2022 года штамм был депонирован в «Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства (RCAM)» ФГБНУ «ВНИИСХМ», находящейся по адресу: 196608 Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3. Регистрационный номер-RCAM05965.

2. Видовая идентификация нового штамма

Видовую идентификацию заявленного штамма до вида осуществляли с использованием метода мультисубстратного тестирования MicroPlate GENIII (BioLog). Согласно полученным данным, вероятность того, что изучаемый штамм принадлежит виду *Bacillus mojavensis*!*subtilis* составила 91,8%, а к *B. subtilis* ssp. *subtilis* - 6,1%. Следовательно, штамм RCAM05965 относится к виду *B. mojavensis* (фиг. 1).

3. Морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства предлагаемого штамма Морфолого-культуральные признаки штамма *B. mojavensis* RCAM05965: колонии 3-8 мм в диаметре, амёбовидной формы, край неровный, бледно-белые, профиль плоский. При микроскопии палочки располагаются преимущественно одиночно, реже - парами. Физиологические и биохимические свойства штамма *B. mojavensis* RCAM05965: спорообразующие грамположительные палочки с положительной реакцией на каталазу, ферментируют арабинозу, целлобиозу, маннит. Не сбразивают цитрат, ксилозу, лецитин.

4. Состав питательных сред и условия культивирования и хранения нового штамма в лабораторных условиях.

На питательных бульонах штамм растет в шейкер-инкубаторе при 200-250 об/мин, а на агаризованных средах - в термостате. Культивирование производится в течение 18-24 ч при 30-37°C.

Оптимальная питательная среда - L. Состав (г/л): дрожжевой экстракт - 5, хлорид натрия - 5, пептон - 15. Она же применяется для получения посевного материала. Твердая среда имеет аналогичный состав с добавлением агара из расчета 15 г/л.

В коллекции штамм поддерживается на скошенном агаре с перевивкой не реже 1 раза в 6-12 месяцев. На глицерине при -20°C штамм сохраняет жизнеспособность в течение не менее 2 лет. В лиофилизированном состоянии может сохраняться и дольше. Глубинное культивирование в условиях биореактора производится в опытном

ферментере, штамм *B. mojavensis* RCAM05965 выращивается на промышленной меласно-кукурузной среде, основой которой являются меласса - 25 г/л, кукурузный экстракт - 12,5 г/л, источниками азота и углеводов дрожжевой экстракт - 1 г/л, пептон - 0,5 г/л, а также макро- и микроэлементы: $MgSO_4$ - 0,25 г/л, $MnSO_4$ - 0,03 г/л, $CoCl_2$ - 0,046 г/л, $CaCl_2$ - 1 г/л, $FeSO_4$ - 0,05 г/л, $CuSO_4$ - 0,05 г/л.

Для пеногашения используется химический пеногаситель - лапрол (2 мл/л). Условия глубинного культивирования в биореакторе: оптимальный водородный показатель (pH) - 6,8-7,4, механическое перемешивание за счет двухуровневой мешалки в диапазоне 250-700 оборотов в минуту, время ведения ферментации - около 24 ч, оптимальная температура роста культуры - 37°C, расход воздуха - до 300-700 л/ч, начало спорообразования - с 6 часа культивирования, после внесения инокулята в аппарат, к 24 часу выращивания культура полностью переходит в споры.

Для выращивания культуры, при соблюдении доли посевного материала характерно практически полное отсутствие лаг-фазы; после внесения инокулята в ферментационную среду незамедлительно следует снижение уровня растворенного кислорода и смещение стационарно-заданного водородного показателя.

5. Чувствительность к антибиотикам предлагаемого штамма.

Штамм *B. mojavensis* RCAM05965 высоко чувствителен к левомецетину и энрофлоксацину. К стрептомицину и бензилпенициллину проявляет малую чувствительность.

6. Антагонистическая активность нового штамма.

Новый штамм антагонистически активен по отношению к условно-патогенным микроорганизмам человека и животных: *S. albicans*, *S. marcescens*, *E. coli*.

7. Показатели численности заявленного штамма в ходе ферментации и лиофилизации.

Предлагаемый штамм развивает численность не менее 1×10^9 КОЕ/мл при культивировании в биологическом реакторе. После лиофилизации *B. mojavensis* RCAM05965 получается концентрат с титром жизнеспособных бактерий не менее 1×10^{11} КОЕ/г.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Определение чувствительности к антибиотикам у штамма *B. mojavensis* RCAM05965.

Устойчивость к антибиотикам заявленного штамма устанавливали с помощью диско-диффузионного метода. Для этого на поверхность газона бацилл выкладывали диски с антибиотиками и культивировали в течение суток. Эксперимент проводили в 3-кратной повторности, учитывая зоны подавления роста бактерий (табл. 1).

Таблица 1. Чувствительность к антибиотикам бактерий *B. mojavensis* RCAM05965

| Антибиотики | Диаметры зон подавления роста (мм) | Степень чувствительности |
|------------------|------------------------------------|--------------------------|
| Тетрациклин | 17,3±2,5 | чувствительный |
| Стрептомицин | 14,3±0,6 | малочувствительный |
| Бензилпенициллин | 12,3±2,5 | малочувствительный |
| Канамицин | 20,3±0,6 | чувствительный |
| Ампициллин | 20,0±1,0 | чувствительный |
| Доксициклин | 22,7±1,5 | чувствительный |

| | | |
|---------------|----------|--------------------------|
| Тилозин | 18,7±1,5 | чувствительный |
| Левомецетин | 26,0±3,5 | высокая чувствительность |
| Неомицин | 18,7±0,6 | чувствительный |
| Энрофлоксацин | 29,7±2,5 | высокая чувствительность |

Предлагаемый штамм не обладает абсолютной резистентностью ни к одному исследуемому антибиотику, следовательно, он не может передать эту способность патогенным микроорганизмам в результате горизонтального переноса генов. Штамм *B. mojavensis* RCAM05965 наименее чувствителен к бензилпенициллину - антибиотику пенициллинового ряда. И наиболее чувствителен к левомецетину (хлорамфениколу) и энрофлоксацину (фторхинолу). Поэтому совместное применение любого из двух данных антибиотиков с предлагаемым пробиотическим штаммом будет не эффективно.

Пример 2. Установление антагонистической активности штамма *B. mojavensis* RCAM05965 по отношению к условно-патогенным микроорганизмам человека и животных. Антагонистическую активность заявленного штамма и прототипа устанавливали методом отсроченного антагонизма (перпендикулярных штрихов). Для этого первоначально выращивали вертикально штрих штамма-антагониста в течение суток, а затем к нему перпендикулярно в 3-кратной повторности подсеивали тест-культуры и вновь культивировали чашки Петри в течение 24 часов. О наличии антагонистического действия судили по зонам отсутствия или послабления роста тест-культур, а также по нарастанию антагонистов поверх штрихов условных патогенов (табл. 2).

Таблица 2. Антагонистическая активность исследуемых штаммов

| Штамм | <i>E. coli</i> , мм | <i>S. marcescens</i> | <i>C. albicans</i> |
|---|---------------------|----------------------|--------------------|
| <i>B. mojavensis</i> RCAM05965 (заявленный) | 6* | + | + |
| <i>B. subtilis</i> В-2895 (прототип) | 1 | - | + |

*цифрами обозначена зона отсутствия и подавления роста в мм, «-» – отсутствие антагонизма, «+» – штаммы бацилл нарастают поверх штрихов патогенов

Оба штамма антагонистически активны по отношению к *C. albicans*, также как и к *E. coli*. Однако степень подавления роста *E. coli* заявленным штаммом выше, чем у прототипа. Кроме того, антагонизмом по отношению к используемому штамму *S. marcescens* обладает только *B. mojavensis* RCAM05965.

Пример 3. Определение показателей ферментации и лиофилизации штамма *B. mojavensis* RCAM05965.

Доля посевного материала штамма *B. mojavensis* RCAM05965 для культивирования в биологическом реакторе на 250 л составляла 1%. Ферментацию проводили в течение 24 часов, периодически отбирая пробы для контроля за чистотой и динамикой роста культуры. Оптическую плотность (ОП) устанавливали при длине волны 490 нм, предварительно разводя культуральную жидкость в 10 раз. Первоначальная плотность среды - 0,519 (табл. 3).

Таблица 3. Показатели ферментации штамма *B. mojavensis* RCAM05965 в 250 л биореакторе

| Время ферментации, ч | Микроскопия | ОП | pH |
|----------------------|---|------|------|
| 2 | небольшое количество палочек, располагающихся по 1 или 2 | 0,61 | 6,84 |
| 4 | значительное увеличение количества клеток, располагающихся одиночно, по 2 или скоплениями | 1,36 | 6,78 |
| 6 | количество палочек еще увеличилось, располагаются одиночно и в скоплениях | 1,91 | 7,65 |
| 24 | большинство клеток перешли в споры | 2,20 | 8,01 |

Заявленный штамм в соответствии с показателем ОП в промежутке 2-4 ч ферментации двукратно увеличивает свою численность. Дальнейший рост продолжается, но уже менее стремительными темпами. Переход большинства клеток в споры через сутки ферментации сигнализирует об остановке роста культуры. Численность клеток в культуральной жидкости *B. mojavensis* RCAM05965 с ферментера - $6,4 \times 10^9$ КОЕ/мл. После центрифугирования биомасса бацилл смешивается с криопротекторной средой, замораживается и лиофильно высушивается в течение около 2-х суток. Выход концентрата по массе составляет около 1 кг с численностью жизнеспособных клеток - $6,3 \times 10^{11}$ КОЕ/г. Быстрый рост культуры и высокий выход биомассы штамма *B. mojavensis* RCAM05965 после ферментации и лиофилизации позволяют рассматривать его в качестве перспективного для разработки пробиотика для человека и/или животных с высоким титром антагонистической активных бацилл.

Литература

1. Савустьяненко А.В. Механизмы действия пробиотиков на основе *Bacillus subtilis* // Актуальная инфектология, 2016. - №2 (11). - С. 35-44.
2. Успенский Ю.П., Фоминых Ю.А., Наджафова К.Н., Полюшкин С.В. Пробиотики и их место в современном мире // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2020. - №30(3). - С. 24-35. doi: 10.22416/1382-4376-2020-30-3-24-35
3. Kimelman H., Shemesh M. Probiotic Bifunctionality of *Bacillus subtilis*-Rescuing Lactic Acid Bacteria from Desiccation and Antagonizing Pathogenic *Staphylococcus aureus* // *Microorganisms*, 2019. - Vol. 7(10). - Ar. 407. doi:10.3390/microorganisms7100407
4. Su Y., Liu C, Fang H., Zhang D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine // *Microbial Cell Factories*, 2020. - Vol. 19(1). - Ar. 173. doi: 10.1186/s 12934-020-01436-8
5. Иваненко А.А., Самойленко В.А., Пунтус И.Ф., Филонов А.Е. Пат. 2509149, МПК51 С12N 1/20. Штамм *Bacillus subtilis* subsp. *Subtilis* ВКМ В-2711D, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* и резистентностью к стрептомицину и тетрациклину, 2014.
6. Иваненко А.А., Самойленко В.А., Пунтус И.Ф., Филонов А.Е. Пат. 2501849, МПК51 С12N 1/20. Штамм *Bacillus licheniformis* ВКМ В-2713D, обладающий выраженным антагонизмом по отношению к *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*

и резистентностью к стрептомицину и налидиксовой кислоте, 2013.

7. Буланцев А.Л., Тихонов Н.Г., Липницкий А.В. Пат. 2118364, МПК51 C12N 1/20. Штамм *Bacillus subtilis* ТРАХС, резистентный к тетрациклину, рифампицину, ампициллину, хлорамфениколу, стрептомицину, обладающий антибактериальной активностью по отношению к патогенным видам микроорганизмов, 1998.
8. Кулаков Г.В., Иренков И.П., Илиеш В.Д. Пат. 2246537, МПК51 C12N 1/20. Штамм бактерий *Bacillus subtilis*, используемый для получения пробиотического препарата, предназначенного для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных, птицы и рыбы, 2005.
9. Дунайцев И.А., Лев И.О., Клыкова М.В., Жиглецова С.К., Сосна И.М., Торголина И.В., Варламова Т.А., Зайцева С.Д. Пат. 2648163, МПК51 C12N 1/20. Штамм *Bacillus mojavensis* Lhv-97, обладающий фунгицидной и бактерицидной активностью, 2018.
10. Сафин Р.И., Каримова Л.З., Валидов Ш.З., Комиссаров Э.Н., Диабанкана Р.Ж.К. Пат. 2737208, МПК51 C12N 1/20. Штамм бактерий *Bacillus mojavensis* ps17 для повышения урожайности и защиты сельскохозяйственных растений от фитопатогенных грибов, 2020.
11. Масленникова С.Н., Каракотов С.Д. Пат. 2752903, МПК51 C12N 1/20. Смесь бактериальных штаммов, обладающая целлюлозолитической и фунгицидной активностью, 2021.
12. Агиева Г.Н., Диабанкана Р.Ж.К., Шаймуллина Г.Х., Абрамова А.А., Сафин Р.И. Пат.2774687, МПК51 C12N 1/20. Способ получения жидких бактериальных биопрепаратов с диатомитом для защиты сельскохозяйственных культур от болезней, 2022.
13. Bacon C.W., Hinton D.M. *Bacillus mojavensis*: Its Endophytic Nature, the Surfactins, and Their Role in the Plant Response to Infection by *Fusarium verticillioides*. *Bacteria in Agrobiolgy. Plant Growth Responses*, 2011. - Ch. 2. - P. 21-39. doi:10.1007/978-3-642-20332-9_2
14. Mohammad D., Mohammad A., Merajul I.R., Mohammad S., Salim M., Shaik A.H., Hisamuddin S. *Bacillus mojavensis*, a Metal-Tolerant Plant Growth-Promoting Bacterium, Improves Growth, Photosynthetic Attributes, Gas Exchange Parameters, and Alkalo-Polyphenol Contents in Silver Nanoparticle (Ag-NP)-Treated *Withania somnifera* L. (*Ashwagandha*) // *ACS Omega*, 2022. - Vol. 7. - P. 13878-13893. doi:10.1021/acsomega.2c00262
15. Hamza A., Fdhila K., Zouiten D., Masmoudi A.S. *Virgibacillus proomii* and *Bacillus mojavensis* as probiotics in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae: effects on growth performance and digestive enzyme activities // *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015. - Vol. 42(2). - P. 495-507. doi: 10.1007/s10695-015-0154-6
16. Бьерре К., Кантор М.Д., Янсен Т., Деркс П. Пат. 2751166, МПК51 C12N 1/20. Способ получения молочного продукта, ферментированного с помощью молочнокислых бактерий и бактерий *Bacillus*, бактериальная композиция и ее применение в данном способе, 2021.
17. Miray E.B., Ibrahim C, Jose L.B., Ibrahim D. Effects of two host-associated probiotics *Bacillus mojavensis* B191 and *Bacillus subtilis* MRS 11 on growth performance, intestinal morphology, expression of immune-related genes and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Streptococcus* spp. // *Developmental and Comparative Immunology*, 2023.-Vol. 138.-Ar. 104553. doi: 10.1016/j.dci.2022.104553
18. Забокрицкий Н.А. Фармако-микробиологические аспекты разработки, конструирования и создания экспериментального образца биогепаатопротектора // *Здоровье и образование в XXI веке*, 2014. - Т. 16.-№3. - С. 81-85.

(57) Формула изобретения

Штамм бактерий *Bacillus mojavensis* RCAM05965, характеризующийся антагонистическим действием по отношению к условно-патогенным грибам *Candida albicans* и бактериям *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*.

10

15

20

25

30

35

40

45

| Rank | PROB | SIM | DIST | Organism Type | Species |
|------|-------|-------|-------|---------------|---------------------------------------|
| 1 | 0.918 | 0.719 | 4.033 | GP-Rod-SB | <i>Bacillus mojavensis/subtilis</i> |
| 2 | 0.061 | 0.155 | 4.586 | GP-Rod-SB | <i>Bacillus subtilis ss subtilis</i> |
| 3 | 0.012 | 0.068 | 5.313 | GP-Rod-SB | <i>Bacillus fortis</i> |
| 4 | 0.009 | 0.058 | 5.439 | GP-Rod-SB | <i>Bacillus atrophaeus/subtilis B</i> |

Result
Comment
Notice

Species ID: *Bacillus mojavensis/subtilis*

Протокол видовой идентификации штамма *Bacillus mojavensis* RCAM05965

Фиг. 1