

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

Научная статья

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-108>



Сравнительная оценка гидролизатов как основы при конструировании питательной среды для культивирования *Listeria monocytogenes*

Хаптанова Н.М.¹, Остяк А.С.¹, Лукьянова С.В.^{1✉}, Кузнецов В.И.¹,
Андреевская Н.М.¹, Адамович С.Н.², Ушаков И.А.², Юденич С.В.¹, Балахонов С.В.¹

¹Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия;

²Иркутский институт химии имени А.Е. Фаворского, Иркутск, Россия

Аннотация

Цель работы — провести сравнительную оценку панкреатических гидролизатов, полученных из рыбы и кальмаров, для подбора оптимальной питательной среды для культивирования *Listeria monocytogenes*.

Материалы и методы. В работе использовали следующее сырье: сельдь тихоокеанскую (*Clupea pallasii*), минтай (*Gadus chalcogrammus*), плотву сибирскую (*Rutilus rutilus lacustris*) — сорогу, кальмар европейский (*Loligo vulgaris*). Сырье подвергали ферментативному гидролизу с помощью поджелудочной железы (по Хоттингеру). Проводили исследование физико-химических свойств панкреатических гидролизатов (аминный азот, кислотность, аминокислотный состав). Специфическую активность питательных сред при культивировании тест-штамма *L. monocytogenes* 766 оценивали комплексом микробиологических методов.

Результаты и обсуждение. Наибольшее содержание аминного азота в конце ферментативного гидролиза выявлено в панкреатическом гидролизате сороги (6%), кислотность гидролизата сороги оставалась стабильной с 6-х до 13-х суток процесса гидролиза (рН 7,2). Панкреатические гидролизаты содержали ряд аминокислот, которые являются наиболее существенными для роста листерий.

При оценке биологических свойств питательных сред, приготовленных на основе полученных гидролизатов, наилучшие результаты отмечены у питательной среды на основе панкреатического гидролизата сороги. При культивировании *L. monocytogenes* 766 установлено, что тест-штамм сохранял морфологические и культуральные свойства и не проявлял признаков диссоциации.

Заключение. Результаты исследований показали, что панкреатический гидролизат сороги является перспективной белковой основой для конструирования экспериментальной листериозной среды.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, листериоз, панкреатический гидролизат, питательная среда, биологические свойства

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 20-43-380001.

Для цитирования: Хаптанова Н.М., Остяк А.С., Лукьянова С.В., Кузнецов В.И., Андреевская Н.М., Адамович С.Н., Ушаков И.А., Юденич С.В., Балахонов С.В. Сравнительная оценка гидролизатов как основы при конструировании питательной среды для культивирования *Listeria monocytogenes*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(4):481–485.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-108>

Original article

<https://doi.org/10.36233/0372-9311-108>

Comparative evaluation of hydrolysates as a basis for the construction of a nutrient medium for the cultivation of *Listeria monocytogenes*

Natal'ya M. Khaptanova¹, Aleksandr S. Ostyak¹, Svetlana V. Lukyanova^{1✉},
Vladimir I. Kuznetsov¹, Nina M. Andreevskaya¹, Sergey N. Adamovich²,
Igor A. Ushakov², Sergei V. Yudenich¹, Sergei V. Balakhonov¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia;

²Irkutsk A.E. Favorsky Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia

Abstract

The **objective** is to perform a comparative evaluation of the pancreatic hydrolysates prepared from fish and squid to determine the optimal culture medium for *Listeria monocytogenes*.

Materials and methods. The following raw materials were used in the study: Pacific Herring (*Clupea pallasii*), Alaska Pollock (*Gadus chalcogrammus*), Common Roach (*Rutilus rutilus lacustris*), European Squid (*Loligo vulgaris*). The raw materials were subjected to enzymatic hydrolysis using the pancreas (according to Hottinger). A study of the physicochemical properties of pancreatic hydrolysates (content of free amino nitrogen (FAN), acidity of fish hydrolysates, the amino acid composition) was carried out. The specific activity of nutrient media during the cultivation of the test strain *L. monocytogenes* 766 was assessed by a complex of microbiological methods.

Results and discussion. The highest content of FAN at the end of enzymatic hydrolysis was observed in the pancreatic hydrolysate of the common roach (6%), the acidity of the hydrolysate remained stable from 6th to 13th day of the hydrolysis process (pH 7.2). Pancreatic hydrolysate of the common roach contained a number of amino acids that are most essential for the growth of *Listeria*.

An assessment of the biological properties of nutrient media prepared on the basis of the obtained hydrolysates demonstrated that the best results in terms of sensitivity and germination of *L. monocytogenes* 766 showed a nutrient medium based on the pancreatic hydrolysate of the common roach. During the cultivation of *L. monocytogenes* 766 the test strain retained its morphological and cultural properties and did not show signs of dissociation.

Conclusion. The research results have shown that the pancreatic hydrolysate of the common roach is a promising protein basis for the construction of an experimental environment for *Listeria*.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, pancreatic hydrolysate, nutrient medium, biological properties

Funding. The reported study was funded by RFBR and the Government of the Irkutsk Region according to the research project 20-43-380001.

For citation: Khaptanova N.M., Ostyak A.S., Lukyanova S.V., Kuznetsov V.I., Andreevskaya N.M., Adamovich S.N., Ushakov I.A., Yudenich S.V., Balakhonov S.V. Comparative evaluation of hydrolysates as a basis for the construction of a nutrient medium for the cultivation of *Listeria monocytogenes*. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2021;98(4):481–485.
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-108>

Введение

При проведении бактериологических исследований, а также для производства медицинских изделий для диагностики *in vitro* требуются качественные питательные среды (ПС), обеспечивающие потребности роста *Listeria monocytogenes*. К наиболее часто применяемым компонентам микробиологических сред относятся питательные основы животного и растительного происхождения [1–3]. В настоящее время мясные основы в большинстве случаев уступили место более рентабельному сырью — рыбе и продуктам ее переработки. Так, в производстве отечественных ПС используют гидролизат рыбной муки, в связи с этим целесообразен поиск альтернативных источников сырья [4–6].

Цель — провести сравнительную оценку панкреатических гидролизатов (ПГ), полученных из рыбы и кальмаров, для подбора оптимальной ПС для культивирования *L. monocytogenes*.

Материалы и методы

Для получения ПГ в качестве исходного сырья использовали сельдь тихоокеанскую (*Clupea pallasii*), минтай (*Gadus chalcogrammus*), плотву сибирскую (*Rutilus rutilus lacustris*) — сорогу, кальмара европейского (*Loligo vulgaris*). В качестве фер-

мента — поджелудочную железу крупного рогатого скота. ПГ готовили согласно методике [7].

Содержание аминного азота определяли формальным титрованием, значение pH гидролизатов исследовали потенциометрическим методом по МУК 4.2.2316-08¹.

Определение состава гидролизатов 1–4 проводили методом ¹H, ¹³C, ¹⁵N ЯМР-спектроскопии. Спектры ЯМР ¹H (400,1 МГц), ¹³C (100,6 МГц), ¹⁵N (40,5 МГц) записывали на спектрометрах «Bruker DPX400» (¹³C) и «Bruker AV400» (¹H и ²M) без использования дейтерированных растворителей.

Определение биологических свойств проводили комплексом микробиологических методов в соответствии с МУК 4.2.2316-08. В работе использовали тест-штамм *L. monocytogenes* 766 из коллекции патогенных бактерий Иркутского научно-исследовательского противочумного института.

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней арифметической (*M*) и средней ошибки средней арифметической (*m*). При оценке достоверности различий сравниваемых данных за уровень значимости принимали *p* < 0,05.

¹ Методы контроля бактериологических питательных сред. Методические указания. МУК 4.2.2316-08. М., 2008. 64 с.

Биологические свойства тест-штамма *L. monocytogenes* 766, выращенного на плотных ПС с различными вариантами питательных основ

Biological properties of the test strain *L. monocytogenes* 766 cultured on solid nutrient media with different variants of nutrient bases

Питательная основа Nutrient base	Показатель прорастания микроорганизмов*, % ($M \pm m$) Index of emergence of microorganisms*, % ($M \pm m$)	Чувствительность (выросло колоний при посеве 10 м.к.) ($M \pm m$) Sensitivity (grown colonies when 10 microbial cells were inoculated) ($M \pm m$)	Диаметр колоний, мм Colony diameter, mm	Скорость роста, ч Growth rate, h
Сельдь тихоокеанская Pacific Herring (<i>Clupea pallasii</i>)	—	—	—	18
	100,0 ± 1,1	6,0 ± 1,1	1,0–1,2	24
	100,0 ± 1,8	7,0 ± 1,1	3,0–3,5	48
Минтай Alaska Pollock (<i>Gadus chalcogrammus</i>)	—	—	—	18
	—	—	1,0	24
	100,0 ± 1,4	8,0 ± 0,4	2,5–3,0	48
Сорога Common Roach (<i>Rutilus rutilus lacustris</i>)	—	—	—	18
	110,0 ± 1,1	9,0 ± 0,4	1,0–1,5	24
	112,0 ± 1,6	10,0 ± 0,4	3,0–4,0	48
Кальмар европейский European Squid (<i>Loligo vulgaris</i>)	—	—	—	18
	—	—	< 1,0	24
	99,0 ± 1,8	7,0 ± 1,1	2,0–2,5	48

Примечание. *Показатель прорастания микробных клеток — отношение среднего числа колоний, образовавшихся на испытываемой среде, к среднему числу колоний на контрольной среде, выраженное в процентах; «—» — подсчет колоний не проводился.

Note. *The index of the emergence of microbial cells is the ratio of the average number of colonies formed on the test medium to the average number of colonies on the control medium, expressed as a percentage; (—) — no colonies were counted.

Результаты и обсуждение

В процессе приготовления ПГ смешивали фарш из исходного сырья, бульон, добавляли поджелудочную железу крупного рогатого скота и хлороформ. Потеря в массе от исходного сырья составила 56% у кальмаров и 26–38% у рыбы.

Динамику ферментативного процесса определяли по нарастанию аминного азота. Во всех полученных ПГ наблюдали количественное изменение содержания аминного азота в течение 13 сут (в среднем до $5,7 \pm 0,2\%$). Содержание 1,5–6,0% аминного азота в гидролизате говорит о высокой степени расщепления белка до аминокислот и пептидов. Прекращение нарастания аминного азота свидетельствует об окончании ферментативного процесса.

Наибольшее содержание аминного азота в конце гидролиза выявлено в ПГ сороги — 6%. Этот показатель оставался стабильным с 6-х до 13-х суток процесса гидролиза, что свидетельствует о более быстрой фазе гидролиза в этом образце. Наименьшие показания аминного азота отмечены в ПГ минтая (5,4%). Во всех образцах степень гидролиза наиболее интенсивно увеличивалась в течение первых 3 сут и на 7-е сутки (в среднем на $0,9 \pm 0,2\%$ и $1,2 \pm 0,2\%$ соответственно) по сравнению с 1-ми сутками ферментализации, а в течение последующих 6 сут отмечалась стабилизация значений степени гидролиза (в среднем увеличение на 0,2%) по сравнению с 7-ми сутками.

Водородный показатель (рН) исследуемых проб в процессе гидролиза на 1-е сутки оставался нейтральным, а затем, на протяжении последующих 13 сут, изменялся в слабощелочную сторону (в среднем от $6,9 \pm 0,1$ до $7,4 \pm 0,2$).

Значения рН в гидролизате сороги оставались стабильным с 6-х до 13-х суток процесса гидролиза (рН 7,2), что согласуется и с показателями аминного азота. В гидролизате сельди значения рН с 7-х по 13-е сутки были также близки к нейтральным значениям, а в гидролизатах кальмара и минтая, напротив, после 3 сут гидролиза стремились в слабощелочную сторону (от 7,4 до 7,7), что, вероятнее всего, связано с особенностями исходного сырья.

Для оценки качественного состава питательных основ был использован метод ЯМР-спектроскопии. Согласно данным [8–10] и спектральной базы органических соединений National Institute of Advanced Industrial Science and Technology², эти сигналы соответствуют группам CHNH_2 , CH_2CHNH_2 аминокислот. В области спектра 124–125 м.д. для всех образцов присутствуют наборы сигналов, характерные для замещенного ароматического кольца.

В области 174–188 м.д. наблюдаются наборы сигналов карбоксильных групп COOH , принадлежащих нескольким аминокислотам. Анализ 2М спектров ЯМР свидетельствует о наличии в образцах

² URL: www.aist.go.jp; www.acdlabs.com

свободных аминокислот (аланин, валин, треонин, аргинин, лизин, лейцин, метионин, фенилаланин, глицин). Доля гистидина, тирозина, триптофана составляет 5%. В виде примесей в ПГ сельди присутствует глицерин (73,1 и 63,5 м.д.), а в ПГ минтая и кальмара — диметилкарбамид (3,3 м.д. в ^1H -ЯМР и 60 и 157 м.д. в ^{13}C). Наиболее свободным от примесей был ПГ сороги. Сигналы в спектрах ^{15}N -ЯМР в области от -330 до -352 м.д. соответствуют свободным NH_2 -группам.

Таким образом, из исследуемых аминокислот в ПГ выявлены 5 (лейцин, аргинин, метионин, валин, гистидин), которые являются наиболее важными для роста листерий и стимулирующими его, а 6 (триптофан, лизин, фенилаланин, глицин, аланин, треонин) также соответствуют питательным потребностям микроорганизма.

Из полученных лиофилизированных гидролизатов сконструировали 4 плотные ПС, в состав которых входили (г/л): NaCl — 3,0; агар микробиологический — 9,0; глюкоза — 10,0; карбонат натрия — 0,7; pH среды $7,3 \pm 0,2$.

Изучены биологические свойства приготовленных ПС по показателям прорастания микроорганизмов, чувствительности ПС, скорости роста микроорганизмов и стабильности культуры (таблица).

Отчётливый видимый невооруженным глазом рост культуры *L. monocytogenes* 766 обнаружен через 18 ч инкубации на ПС на основе ПГ сельди и сороги, у других сред определен только через 24 ч. В ПС на основе сельди и сороги через 24 ч инкубации тест-штамма *L. monocytogenes* 766 отмечали типичный рост колоний в S-форме, достаточный для визуального подсчета ($d = 1,0\text{--}1,5$ мм). По сравнению с этим ПС на основе минтая и кальмара обеспечивали типичный рост культуры только через 48 ч инкубации.

Данные о количестве, диаметре и морфологии колоний *L. monocytogenes* 766 через 48 ч инкубации при $37 \pm 1^\circ\text{C}$ показывают, что по количеству выросших колоний *L. monocytogenes* 766 изучаемые ПС отличались между собой незначительно, за исключением ПС, включающей ПГ сороги, которая превосходила ПС на основе сельди, минтая и кальмара ($p < 0,05$). Также наблюдалось увеличение размера колоний листерий (3–4 мм) по сравнению с другими ПС. При этом тест-штамм *L. monocytogenes* 766 сохранял типичные культурально-морфологические и биохимические свойства.

Заключение

Таким образом, показано, что ПС на основе ПГ сороги обладает удовлетворительными ростовыми свойствами, достигнутыми за счет сочетанного использования оптимальных концентраций питательной основы и компонентов, стимулирующих рост листерий, что в совокупности обеспечивает в мини-

мальные сроки значительное накопление бактериальной массы листерий.

Благодарность / Acknowledgments

Определение состава гидролизатов проводили с использованием оборудования Байкальского аналитического центра коллективного пользования СО РАН. / The main results were obtained using the equipment of the Baikal Analytical Center for Collective Use of the SB RAS.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ковтун Ю.С., Курилова А.А., Таран Т.В., Катунина Л.С., Чурикова Н.В. Сравнительная оценка потенциальных белковых основ микробиологических сред. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (3): 92–5.
2. Шепелин А.П. Современное состояние и тенденции в разработке, производстве и применении питательных сред. *Бактериология*. 2016; 1(1): 42–7. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2016-1-42-47>
3. Сизоненко М.Н., Тимченко Л.Д., Ржепаковский И.В., Катунина Л.С. Влияние биологически активных субстанций на основе эмбриональных тканей перепелов на биологические свойства *Listeria monocytogenes*. *Ветеринарная патология*. 2017; (1): 34–9.
4. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. *Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии*. СПб.: ЭЛБИ-СПб.; 2008.
5. Насыпаева Е.Н., Лещенко А.А. Сравнительный анализ способов приготовления питательных основ из продуктов переработки молока. В кн.: *Всероссийская ежегодная научно-практическая конференция «Общество, наука, инновации»*. Киров; 2014: 154–5.
6. Шепелин А.П., Шолохова Л.П., Марчихина И.И., Полосенко О.В. Панкреатический гидролизат рыбной кормовой муки – полноценная белковая основа питательных сред. В кн.: *Материалы IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера "Microbios-2018"»*. Омск; 2018: 82–3.
7. Дятлов И.А., Кутырев В.В., Храмов М.В. *Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы*. М.; 2012.
8. Кузьмина Н.Е., Моисеев С.В., Крылов В.И., Кутин А.А., Яшкир В.А., Меркулов В.А. Валидация методики определения аминокислотного состава фармацевтической субстанции «Глатирамера ацетат» методом ЯМР спектроскопии. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2017; 7(3): 175–81.
9. Simmler C., Napolitano J.G., McAlpine J.B., Chen S.N., Pauli G.F. Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2014; 25: 51–9. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.004>
10. Fan T.W., Lane A.N. Applications of NMR spectroscopy to systems biochemistry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2016; 92–93: 18–53. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2016.01.005>

REFERENCES

1. Kovtun Yu.S., Kurilova A.A., Taran T.V., Katunina L.S., Churikova N.V. Comparative assessment of prospective protein bases for microbiological media. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2014; (3): 92–5. (in Russian)
2. Shepelin A.P. Nutrient media: current status & trends in design, production and application. *Bakteriologiya*. 2016; 1(1): 42–7. <https://doi.org/10.20953/2500-1027-2016-1-42-47> (in Russian)

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

3. Sizonenko M.N., Timchenko L.D., Rzhepakovskiy I.V., Katunina L.S. Influence of biologically active substances on the basis of embryonic tissues of derivatives on the biological properties of *Listeria monocytogenes*. *Veterinarnaya patologiya*. 2017; (1): 34–9. (in Russian)
4. Polyak M.S., Sukharevich V.I., Sukharevich M.E. *Nutrient Media for Medical and Sanitary Microbiology [Pital'nye sredy dlya meditsinskoy i sanitarnoy mikrobiologii]*. St. Petersburg: ELBI-SPb.; 2008. (in Russian)
5. Nasyraeva E.N., Leshchenko A.A. Comparative analysis of methods for preparing nutritional bases from milk processing products. In: *All-Russian Annual Scientific and Practical Conference «Society, Science, Innovations» [Vserossiyskaya ezhegodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Obshchestvo, nauka, innovatsii»]*. Kirov; 2014: 154–5. (in Russian)
6. Shepelin A.P., Sholokhova L.P., Marchikhina I.I., Polosenko O.V. Pancreatic hydrolyzed fish feed meal – a complete protein base of nutrient media. In: *Proceedings of the IV National Congress of Bacteriologists and the International Symposium «Microorganisms and the Biosphere "Microbios-2018"» [Materialy IV Natsional'nogo kongressa bakteriologov i Mezhdunarodnogo simpoziuma «Mikroorganizmy i biosfera "Microbios-2018"»]*. Omsk; 2018: 82–3. (in Russian)
7. Dyatlov I.A., Kutuyev V.V., Khramov M.V. *Nutrient Media for the Isolation, Cultivation, and Identification of Pathogens of Extremely Dangerous Bacterial Infections [Pital'nye sredy dlya vydeleniya, kul'tivirovaniya i identifikatsii vozбудiteley osobo opasnykh infektsiy bakterial'noy prirody]*. Moscow; 2012. (in Russian)
8. Kuz'mina N.E., Moiseev S.V., Krylov V.I., Kutin A.A., Yashkir V.A., Merkulov V.A. Validation of the procedure for determination of amino acids composition of glutiramer acetate by ¹³C NMR spectroscopy. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2017; 7(3): 175–81. (in Russian)
9. Simmler C., Napolitano J.G., McAlpine J.B., Chen S.N., Pauli G.F. Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2014; 25: 51–9. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.004>
10. Fan T.W., Lane A.N. Applications of NMR spectroscopy to systems biochemistry. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 2016; 92-93: 18–53. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2016.01.005>

Информация об авторах

Хаптанова Наталья Маркеловна — м.н.с. лаб. питательных сред Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-8520-4720>

Остяк Александр Сергеевич — н.с. отд. биологического и технологического контроля Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0001-9391-6779>

Лукьянова Светлана Владимировна — к.б.н., н.с. лаб. питательных сред Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-3687-1273>

Кузнецов Владимир Ильич — к.б.н., зав. лаб. питательных сред Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-2089-1771>

Андреевская Нина Михайловна — к.б.н., с.н.с. Научно-производственного отдела Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-8051-1809>

Адамович Сергей Николаевич — д.х.н., в.н.с. Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-1276-924X>

Ушаков Игорь Алексеевич — к.х.н., с.н.с. Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-0176-1699>

Юденич Сергей Валентинович — с.н.с. научно-производственного отдела Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0002-6948-7633>

Балахонов Сергей Владимирович — д.м.н., проф., директор Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Россия, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Участие авторов. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Information about the authors

Natalya M. Khaptanova — junior researcher, Laboratory of cultural medium, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-8520-4720>

Aleksandr S. Ostyak — researcher, Department of biological and technological control, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0001-9391-6779>

Svetlana V. Lukyanova — Cand. Sci. (Biol.), researcher, Laboratory of cultural medium, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, svetalukyan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3687-1273>

Vladimir I. Kuznetsov — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of cultural medium, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-2089-1771>

Nina M. Andreevskaya — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Research and production department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-8051-1809>

Sergey N. Adamovich — D. Sci. (Chem.), leading researcher, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-1276-924X>

Igor A. Ushakov — Cand. Sci. (Chem.), senior researcher, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-0176-1699>

Sergei V. Yudenich — senior researcher, Research and production department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0002-6948-7633>

Sergey V. Balakhonov — D. Sci. (Med.), Prof., Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia, <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Author contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

The article was submitted 03.12.2020;
accepted for publication 26.02.2021;
published 20.03.2021