

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 606:579.852.11+66.911.38(571.1)

doi: 10.17223/19988591/56/3

**И.С. Андреева¹, А.С. Сафатов¹, Л.И. Пучкова¹,
Е.К. Емельянова^{1,2}, Н.А. Соловьянова¹, Г.А. Буряк¹, В.А. Терновой¹**

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»
Роспотребнадзора, р.п. Кольцово Новосибирской области, Россия

²Новосибирский государственный медицинский университет
Минздрава, г. Новосибирск, Россия

Встречаемость и свойства бактерий цереусной группы в аэрозолях атмосферного воздуха Новосибирской области

Работа выполнена при поддержке Государственного задания

«Изучение биоразнообразия микроорганизмов в атмосферных аэрозолях»

Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора
на 2016–2020 гг. «Проблемно-ориентированные научные исследования в области
эпид. надзора за инфекционными и паразитарными болезнями», п. 2.4.6.

Представлены данные по встречаемости и определению свойств спорообразующих бактерий группы *Bacillus cereus* в образцах малоизученных высотных атмосферных аэрозолей Новосибирской области, полученных при самолетном зондировании атмосферы, и в аэрозолях, отобранных в приземном слое воздуха этого же региона. Бактерии цереусной группы *Bacillus cereus* (Bc) и *Bacillus thuringiensis* (Bt), подвидов *Bt ssp. kurstaki*, *Bt ssp. galleriae*, а также изоляты *Bt* с неопределенным серотипом, обнаруженные как в высотных, так и в приземных аэрозолях, проявляли высокую антибиотическую активность к микроорганизмам рода *Staphylococcus*, *Candida*, *Bacillus*, полирезистентность по отношению к антибиотикам. При исследовании биохимических признаков бактерий данной группы обнаружены штаммы, обладающие высокой фосфатазной, протеолитической, липолитической и амилолитической активностями при pH 5,0–9,0, что может быть использовано в биотехнологии для разработки продуцентов ферментов. Установлено, что данные бактерии продуцируют такие ферменты агрессии, как фосфолипазы, гемолизины, протеазы, нуклеолитические ферменты, являющиеся признаками патогенности. Выявлен штамм *B. thuringiensis*, обладающий выраженной секрецией комплекса РНКаз, перспективный для разработки противовирусных препаратов против РНК-содержащих вирусов.

Ключевые слова: *Bacillus cereus*; *Bacillus thuringiensis*; биоаэрозоли атмосферы; спорообразующие бактерии; ферментативная активность; антибиотическая активность

Для цитирования: Андреева И.С., Сафатов А.С., Пучкова Л.И., Емельянова Е.К., Соловьянова Н.А., Буряк Г.А., Терновой В.А. Встречаемость и свойства бактерий цереусной группы в аэрозолях атмосферного воздуха Новосибирской области // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 56. С. 60–85. doi: 10.17223/19988591/56/3

Введение

Состав и структура сообществ бактерий, входящих в состав биоаэрозолей, формируется под воздействием многокомпонентных, меняющихся факторов среды, включающих погодные условия, географическое положение, время суток, сезон года, состав атмосферы, наличие точечных источников микроорганизмов [1, 2]. Спорообразующие бактерии группы *Bacillus cereus*, имеющие большое экономическое, медицинское и биологическое значение, встречаются повсеместно в почвах и воздухе, в том числе в аэрозолях пустынных [3] и тропических [4] широт, обнаруживаются в составе «органической» пыли, воздействующей на рабочих, связанных с растениеводством и производством сельскохозяйственной продукции во время полевых работ [5], и могут быть причиной возникновения инфекционных заболеваний. Транспортный перенос микроорганизмов в атмосфере фиксируется на значительные расстояния. Например, длина траектории переноса воздушных масс, содержащих бактерии цереусной группы, с юга Западной Сибири до Японии в течение 93 ч составила 4 700 км [6]. Кроме переноса на дальние расстояния, спорообразующие бактерии способны оставаться жизнеспособными и после вертикальных подъемов на высоту до 20 км [7, 8], что демонстрирует их устойчивость к УФ-индуцированному повреждению ДНК, высушиванию и экстремальным температурам [9]. Значительное внимание исследователей привлекли события, связанные с пылью в Азии и переносом ее в другие регионы, из-за их неблагоприятного воздействия на экосистемы и здоровье человека. Относительная численность видов *Firmicutes* существенно увеличилась в пылевых образцах ($44,3 \pm 5,0\%$) по сравнению с местными образцами без пыли ($27,8 \pm 4,3\%$) [10].

В цереусную группу бацилл до недавнего времени включали 12 видов рода *Bacillus*: *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. gaemokensis*, *B. manliponensis*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis*, *B. bingmayongensis*, *B. wiedmannii*. С 2017 г. в эту группу отнесены еще 9 новых видов: *B. paranthracis*, *B. pacificus*, *B. tropicus*, *B. albus*, *B. mobilis*, *B. luti*, *B. proteolyticus*, *B. nitratededucens*, *B. paramycoides* [11]. Представители цереусной группы *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. wiedmannii*, *B. cytotoxicus* имеют целый ряд патогенных признаков, включая адгезины, энтеротоксины, гемолизины, являются причиной порчи пищевых продуктов [12]. *B. anthracis* – возбудитель сибирской язвы, *B. thuringiensis* – патоген насекомых, используемый в качестве биоконтролирующего агента [13]. Температурный оптимум роста большинства представителей цереусной группы бактерий позволяет отнести их к мезофилам, однако *B. weihenstephanensis*, *B. wiedmannii* – психротолерантные, а *B. cytotoxicus* – термотолерантные микроорганизмы [14]. Причастность бактерии *B. cereus* к пищевым отравлениям известна с 1950-х гг. Микроорганизмы этого вида могут вызывать диарею, заболевание, похожее на газовую гангрену, пневмонию, менингиты, септицемию, бактериемию,

эндофталмит, эндокардит, сальпингит, кожные инфекции, инфицирование мочевого выделительного тракта, встречаться в виде нозокомиальных инфекций [15].

Высокая ферментативная, антибиотическая, инсектицидная активности бактерий цереусной группы находят широкое применение в биотехнологии для разработки биопрепаратов различного назначения. Благодаря продукции гидролитических ферментов и широкого спектра антибиотических соединений, метаболиты *B. cereus* обладают высокой антимикробной активностью, в связи с чем биомасса спор введена в состав таких препаратов-пробиотиков, как «тойоцерин» [16], «бактисубтил», «флонивил», «цереобиоген» [17], других препаратов для медицины и ветеринарии [18]. Штаммы *B. cereus* патогенны для большого круга насекомых: чешуекрылых *Lepidoptera*, перепончатокрылых *Hymenoptera*, жесткокрылых *Coleoptera*, а также тараканов *Leucophaea maderae*. Считают, что факторами патогенности *B. cereus* служит фосфолипаза С. Однако ведущую роль среди возбудителей бактериальных болезней насекомых имеет чрезвычайно гетерогенный токсинотропный вид *B. thuringiensis*, штаммы которого различаются по целому ряду физиолого-биохимических признаков, способности к синтезу ферментов, бактерициноподобных веществ, а также инсектицидности и специфичности к насекомым [13]. Сравнение инсектицидной и антимикробной активностей растворов параспоровых включений *B. thuringiensis* выявило существование прямой корреляции между ними. Выяснено, что морфовары *B. thuringiensis* могут проявлять как взаимный антагонизм, так и противомикробное воздействие на *B. megaterium*, *B. subtilis*, *B. laterosporus* [19].

В связи с накопившимися сведениями о влиянии микробиоты атмосферы на климатические процессы, способности вызывать аллергические реакции и заболевания человека, транспортироваться на большие расстояния активность исследований биогенной компоненты атмосферы в мире значительно выросла, в то время как обширная территория Сибири по-прежнему относится к малоизученным территориям. Для Западной Сибири исследования аэрозолей атмосферы сравнительно немногочисленны: проведены мониторинговые исследования состава, концентрации культивируемых микроорганизмов и суммарного белка в атмосферных высотных и приземных аэрозолях над Караканским бором, на площадках в п. Ключи и п. Кольцово Новосибирской области, выделено и охарактеризовано большое количество культивируемых бактерий и грибов [20–22]; с применением молекулярно-биологических методов в приземных аэрозолях Сибирского региона исследованы таксономический состав, сезонная и суточная динамика микробных сообществ [23], пробы отобраны в диапазоне температур 48 °С (от 26 до –22 °С). Зимой по сравнению с летом наблюдали в 5–170 раз снижение выхода ДНК, извлеченной из биомассы, находящейся в воздухе. Отдельных исследований о наличии *Bacillus cereus* и других представителей цереусной группы в аэрозолях атмосферного воздуха территории Западной Сибири в литературе практически не представлено.

Восполнение недостающей информации о составе, концентрации микробиоты атмосферы Сибири, имеющей планетарное экологическое значение, поиск новых штаммов для обновления базы продуцентов биологически активных веществ с расширенным диапазоном действия, мониторинг патогенных микроорганизмов в аэрозолях воздуха для профилактики и предотвращения заболеваний – задачи с возрастающей актуальностью.

Цель данного исследования – определение встречаемости и свойств бактерий группы *B. cereus* в приземных атмосферных аэрозолях и в аэрозолях высотных, полученных при самолетном зондировании атмосферы Новосибирской области, расположенной на юге Западной Сибири, оценка биотехнологического потенциала выделенных микробных изолятов.

Материалы и методики исследования

Отбор образцов аэрозолей. Приземные пробы воздуха отбирали на высоте 2 м в импинджеры с расходом 50 л/мин, содержащие 50 мл раствора Хенкса «БИОЛОТ» (Россия), по 30 мин 4 раза за сутки ежемесячно на площадке, используемой в качестве примера участка с антропогенной нагрузкой, расположенной в п. Кольцово Новосибирской области. Средний объем воздуха, пропущенный через импинджер, составлял около 1 500 л. Отбор высотных проб атмосферного воздуха осуществляли над территорией Караканского бора в 50 км к югу от Новосибирска (границы траектории полета самолета: 54°26'38" с.ш., 82°30'47" в.д.; 54°10'55" с.ш., 81°44'00" в.д.) с помощью лаборатории «Оптик-Э», смонтированной на самолете АН-30 и затем на ТУ-134. Караканский бор исследовали как пример относительно чистого экологического эталона. Пробы отбирали в дневное время, последовательно на высотах 7 000, 5 500, 4 000, 2 000, 1 500, 1 000 и 500 м в течение 6–10 мин с использованием импинджеров с расходом 50 л/мин, содержащих 50 мл раствора Хенкса. В зависимости от времени отбора объем высотной пробы воздуха составлял 300–500 л.

Титр микроорганизмов в высотных и приземных пробах определяли в пересчете на 1 м³ атмосферного воздуха.

Образцы атмосферных аэрозолей в трех повторах высевали на стандартные питательные среды [24]: рыбный питательный агар, крахмало-аммиачный агар, почвенный агар, среду Сабуро «ФБУН ГНЦ ПМБ» (Россия), жидкую и агаризованную среду LB «Difco» (США), позволяющие выявить микроорганизмы различных таксономических групп [24, 25], и инкубировали при температурах 28–30 и 6–10 °С в течение 3–20 суток. Индивидуальные колонии микроорганизмов использовали для получения чистых культур и последующего анализа фенотипических свойств. Влияние pH среды на рост микроорганизмов определяли при культивировании штаммов на вариантах агаризованной среды LB с pH 5,0, 7,0 и 9,0. Температурный диапазон роста определяли при культивировании штаммов на агаризованных средах

при температурах 5, 20, 30, 37, 42 и 55 °С. Морфологию клеток микроорганизмов исследовали методом фазово-контрастной микроскопии с помощью микроскопа Axioskop 40 «Carl Zeiss» (Германия). Для дальнейшего исследования отобраны 25 бактериальных изолятов по фенотипическим и геномным признакам, соответствующих бактериям группы цереус. В качестве контрольных штаммов использованы типовые штаммы из состава коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора: штамм *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* В-916, штаммы *B. thuringiensis* ssp. *galleriae* В-966 и В-997, штаммы *B. cereus* В-1367 и В-277.

Скрининг ферментативной активности культур. Липолитическую активность определяли на желточном агаре и агаризованной среде LB, содержащей эфиры жирных кислот, с добавлением 0,01% CaCl_2 . В качестве субстратов использовали 1,0% монолаурат (твин-20) и моноолеат (твин-80). Чашки со средой, засеянные испытуемыми культурами, выдерживали в термостате при 28–30 °С в течение 2 суток. Амилолитическую активность культур определяли при их высеве на крахмало-аммиачный агар, протеолитическую – по способности к гидролизу желатина и казеина молока [26]. Способность к гемолизу учитывали, высевая культуры на среду LB с добавлением крови барана. Нуклеазную активность исследовали на среде LB с добавлением ДНК «Sigma» (США) [26]. Содержание плазмидной ДНК в изолятах определяли скринингом по стандартной методике [26].

Способность к секреции РНКаз в культуральной среде ПДГГ при культивировании бактерий при температуре 30 °С в течение 18–24 ч определяли по накоплению кислото-растворимых продуктов, образующихся при гидролизе высокополимерной РНК дрожжей (1 мг/мл). За единицу активности ферментов принимали их количество, катализирующее образование 1 A_{260} кислоторастворимых продуктов в течение 60 мин при 37 °С в 50 мМ трис-НСl, рН 8,0. Состав среды ПДГГ (г/л): пептон – 9,27, дрожжевой экстракт – 5,00, NaCl – 3,00; 10 мл 50% глицерина, 2 мл 20% глюкозы; рН 7,0–7,2 [27].

Антибиотическую активность исследуемых штаммов определяли классическим диффузионным методом отсроченного антагонизма (метод перпендикулярных штрихов) [28] на среде LB при температуре 37 °С. В качестве патогенных тест-штаммов применяли: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 620, *Klebsiella pneumoniae* В-4894, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* 2606, *Shigella sonnei* 32 из состава коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Контроль характера и активности роста тест-штаммов – их параллельный посев на чашки Петри с той же питательной средой без испытуемой культуры.

Чувствительность исследуемых культур к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом с применением дисков производства НИЦФ (Россия).

Генетический анализ бактериальных изолятов проведен с помощью ПЦР со специфическими праймерами на 16S рРНК [29]. Нуклеиновые кислоты

выделяли из суточных вегетативных клеток, контролируя отсутствие спорообразования микроскопически. Клетки бактериальных изолятов разрушали лизирующим буфером (набор реагентов для выделения ДНК/РНК, «НПФ Литех» (Россия)) и выделяли суммарную ДНК согласно прилагаемой к набору инструкции. ПЦР проведен с использованием буфера и полимеразы производства «СибЭнзим» (Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкцией по применению. Для проведения ПЦР использовали следующую программу: 94 °C – 10 с, 60 °C – 15 с, 72 °C – 30 с, 40 циклов, затем 72 °C – 7 мин. Продукты ПЦР анализировали в 2,0% агарозном геле. Нуклеотидные последовательности 16S рРНК бактерий определяли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3130xl «Hitachi» (США) с использованием набора ABI prism Big Dye terminator V3.1 cycle. Для секвенирования использовали продукты амплификации длиной 1 360 п.о. Выравнивание проведено с помощью программы «Lasergene 9». Филогенетический анализ осуществлен с помощью программного обеспечения «MEGA 7».

Выделенные штаммы микроорганизмов хранили при низкотемпературном замораживании в коллекции природных изолятов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Статистическая обработка данных. Расчет числа культивируемых микроорганизмов в пробах проведен по методу Кербера [30], при этом количество микроорганизмов усредняли по 3 параллелям высевных проб. Среднегодовые суммарные величины численности культивируемых микроорганизмов рассчитывали как средние по повторностям $\pm$ доверительный интервал на уровне значимости 95%, применяя *t*-критерий Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты исследования и обсуждение

На территории юга Западной Сибири с 1998 г. проводится мониторинг биогенной компоненты аэрозолей атмосферного воздуха на высотах до 7 км, заключающийся в изучении качественного и количественного состава культивируемых микроорганизмов. Общая концентрация микроорганизмов в аэрозолях Новосибирской области, расположенной на юге Западной Сибири, составляла в разных пробах в среднем от менее единицы до 5×10^5 КОЕ/м³, при этом концентрация психрофильных микроорганизмов, способных расти при температуре 6–10 °C, в разных образцах могла составлять от $3,20 \times 10^2$ до $1,13 \times 10^5$ КОЕ/м³. Среди выделенных микроорганизмов преобладали бактерии, средняя концентрация грибов в образцах не превышала 10% от общего количества изолятов. Встречаемость спорообразующих микроорганизмов в высотных пробах за годы мониторинга составляла от общего количества выделяемых минимум 0,5% в 2005 г. и максимум 55% в 2011 г.; для наземных образцов – 0,1% в 2002 г. и максимум – 83% в 2016 г. Содержание бактерий цереусной группы в разных образцах также значительно отличалось, составляя от 0,1 до 6,5% от общего количества выделяемых бацилл. Среднегодовое

значение содержания спорообразующих бактерий в высотных и приземных пробах атмосферных аэрозолей представлено на рис. 1.

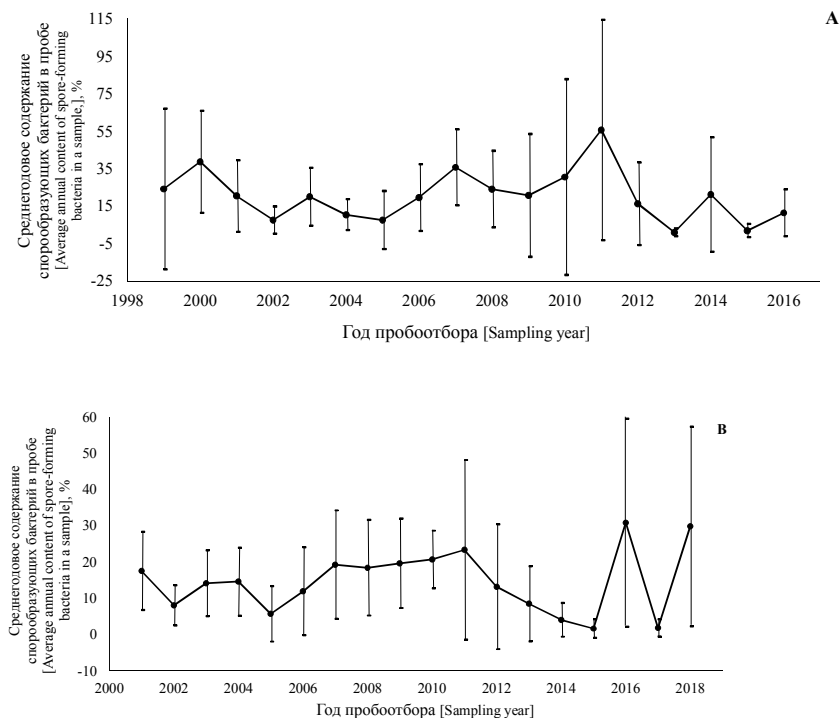


Рис. 1. Среднегодовое значение содержания спорообразующих бактерий в высотных (А) и приземных (В) пробах атмосферных аэрозолей Новосибирской области, %
[Fig. 1. The average annual value of the content of the spore-forming bacteria in high-altitude (А) and surface (В) samples of atmospheric aerosols of Novosibirsk region], %

Количество выделяемых культивируемых спорообразующих бактерий, значительно отличающееся в разные годы наблюдения, представлено на рис. 2, данные геномного анализа – на рис. 3.

Интересно, что в исследуемых образцах аэрозолей, отобранных после длительного дождя или обильного снегопада, клетки микроорганизмов не обнаруживались или присутствовали в единичном количестве. В качестве примера такой ситуации можно привести результаты высевов зимних высотных аэрозолей от 22.12.2010, 29.01.2013, летних высотных – от 30.05.2000, 24.08.2008, приземных проб от 14–15.08.2012, от 18–19.08.2015, где культивируемые микроорганизмы отсутствовали, т.е. наблюдался своеобразный эффект вымывания частиц аэрозолей из атмосферы, что может быть одной из причин значительного отличия концентрации выделяемых микроорга-

низмов в разных образцах, а в результате – и в суммарных среднегодовых данных.

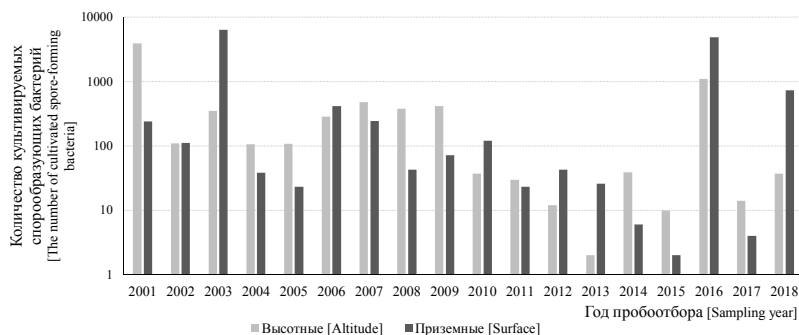


Рис. 2. Суммарное количество культивируемых штаммов спорообразующих бактерий, ежегодно выделяемых из образцов высотных и приземных атмосферных аэрозолей Новосибирской области
[Fig. 2. The total number of cultivated strains of spore-forming bacteria annually isolated from samples of high-altitude and surface atmospheric aerosols of the Novosibirsk region]

Из приземных и высотных проб аэрозолей осени 2016 г., отобранных в период преобладания юго-западных ветров из Казахстана, характеризующихся повышенным содержанием пылевых компонентов и особо высокой численностью спорообразующих бактерий, выделены 225 бактериальных изолята, из которых 62 образовывали эндоспоры.

Штаммы спорообразующих бактерий по определению фенотипических свойств и данных геномного анализа (см. рис. 3) отнесены к родам *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Lysinibacillus*, *Oceanobacillus* и ряду других. Среди микробных изолятов этого периода преобладали бактерии рода *Bacillus*, по совокупности признаков отнесенные к видам *B. beringensis*, *B. boroniphilus*, *B. megaterium*, *B. firmus*, *B. korlensis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. brevis*, *B. licheniformis* и другим.

Бактерии, идентифицированные как *Bacillus cereus* (Bc) и *Bacillus thuringiensis* (Bt) подвигов *Bt* ssp. *kurstaki*, обнаружены как в высотных, так и в приземных пробах, штаммы *Bt* ssp. *galleriae* изолированы из приземных атмосферных аэрозолей.

Следует отметить, что среди бактериальных изолятов цереусной группы отсутствовали патогенные бактерии *Bacillus anthracis*, так как клетки всех выделенных штаммов подвижны, обладали фосфолипазой, щелочной фосфатазой, проявляли гемолитическую, плазмокоагулазную активности, устойчивы к пенициллину, что не является свойственным для бактерий вида *B. anthracis* (табл. 1, 2).

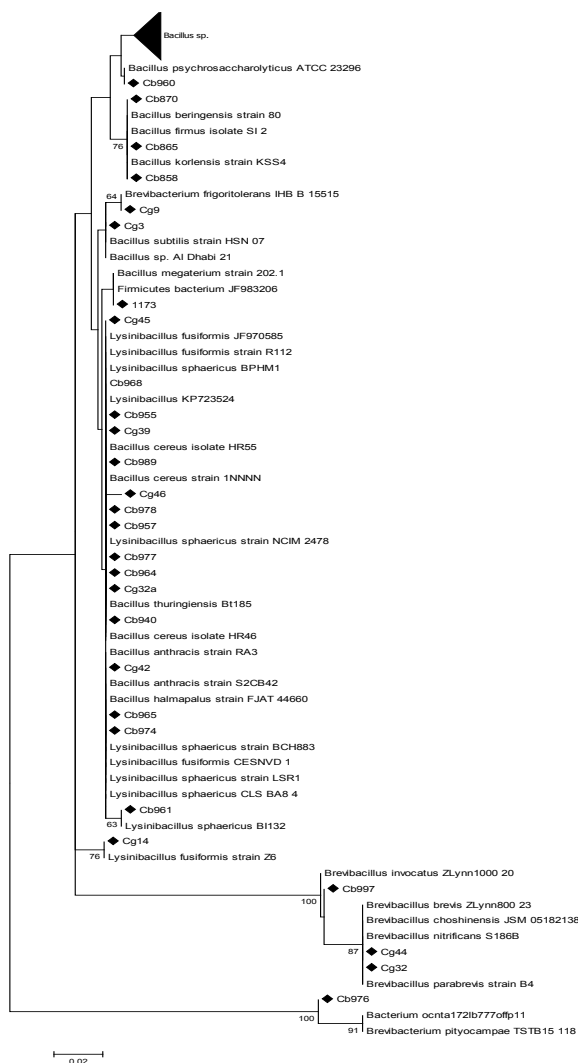


Рис. 3. Филогенетическое дерево, построенное для бактерий, выделенных из аэрозолей атмосферного воздуха, на основе сравнения с известными штаммами. Анализ проведен методом «объединения ближайших соседей» с использованием 2-параметрической модели Кимуры

[Fig. 3. The phylogenetic tree constructed for bacteria isolated from atmospheric aerosols based on comparison with known strains. The analysis was carried out with the nearest neighbor method using the Kimura 2-parameter model]

В литературе приводятся данные анализа сходных образцов, где авторами показано, что аэрозоли, привнесенные с пылью из Азии, также содержали большее количество видов бацилл (23,8% от общего количества), чем местные образцы без пыли (13,3%), включая виды, тесно связанные с *Bacillus cereus*. В изолятах *B. cereus*, выделенных из образцов аэрозолей, со-

державших пыль, анализ генов энтеротоксинов подтвердил наличие факторов вирулентности [10].

Таблица 1 [Table 1]

**Признаки штаммов бацилл, близких на филогенетическом древе
к видам *Bacillus cereus* и *Bacillus anthracis***
[Characteristics of bacilli strains that are close to the species
Bacillus cereus and *Bacillus anthracis* on the phylogenetic tree]

Штамм [Strain]	Морфология клеток [Cell morphology]	Размер клеток (мкм) [Cell size (μm)]	Подвижность [Mobility]	Эндоспоры [Endospores]	Щелочная фосфатаза [Alkaline phosphatase]	Фосфолипаза [Phospholipase]	Плазмокоагулаза [Plasma coagulase]	Гемолиз [Hemolysis]	Устойчивость к пенициллину [penicillin resistance]	Параспоральные кристаллы [Parasporal crystals]
Cb-989	Палочки по 1–2 и в цепочках [1-2 rods and in chains]	1,0– 1,2× 3–5	+	EST EC	+	+	+	+	R	–
Cg-42	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
Cb-940	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
Cg-45	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
Cg-39	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	+
Cg-46	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
Cb-946	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
Cb-958	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
<i>B. cereus</i> ATCC 10702	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
<i>B. cereus</i> B-277	–«–	–«–	+	–«–	+	+	+	+	R	–
<i>B. cereus</i> *	–«–	–«–	+/-	–«–	+	+	+/-	+	R	–
<i>B. anthracis</i> *	–«–	–«–	–	EC	–	–	–	–	S	–
<i>B. thuringiensis</i> *	–«–	–«–	+/-	EST	+	+	+	+	R	+

Примечание: * по [31]; «+» – положительное проявление признака; «–» – отрицательное проявление признака; «+/-» – варибельное проявление признака; EC – споры эллиптические центральные, EST – споры эллиптические субтерминальные; R – устойчив к антибиотикам, S – чувствителен к антибиотикам.

[Note: * according to [31]; “+” - Positive manifestation of the characteristic; “-” - Negative manifestation of the characteristic; “+/-” - Variable manifestation of the characteristic; EC - Elliptical central spores, EST - Elliptical subterminal spores; R - Antibiotic resistance, S - Antibiotic sensitivity].

Ферментативная активность. Биохимические признаки выделенных штаммов *Bc* и *Bt* довольно схожи: все исследуемые штаммы продуцировали каталазу, протеазы, обладали амилалитической, фосфатазной, желатиназной, гемолитической активностями, выраженными в разной степени; гидролизировали глюкозу с образованием кислоты, но не газа, не утилизировали сахарозу и маннит, как правило, обладали плазмокоагуляционной активностью. Выявлен штамм *Bt* Cb-527 с высокой нуклеазной активностью. За небольшим исключением отличия выделенных штаммов проявлялись в соответ-

ствии с видовыми характеристиками [25] в наличии или отсутствии уреазы, липазной и липолитической активностей (табл. 2).

Таблица 2 [Table 2]

**Биохимические признаки штаммов *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis*,
выделенных из атмосферных аэрозолей**
[Biochemical characteristics of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*
strains isolated from atmospheric airaerosols]

Штамм [Strain]		Кристаллы [Crystals]	Амилаза [Amylase]	Уреаза [Ureaza]	Желатиназа [Gelatinase]	Казеиназа [Caseinaza]	Фосфолипазы [Phospholipases]	Липаза [Lipase]	Фосфатаза [Phosphatase]	Гемолизины [Hemolysins]	Плазмокоагулаза [Plasma coagulase]	Гидролиз [Hydrolysis]		
												Сахароза [Sucrose]	Глюкоза [Glucose]	Маннит [Mannit]
Bc	B-1367	–	±	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	B-277	–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cb-946	–	+	–	±	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cb-958	–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cb- 989	–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cg-45	–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cg-42	–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cg-39	–	+	–	±	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Bc	Cg-46	–	+	–	±	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Btk	24-17	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	–	К	–
Btk	18-15	+	+	+	±	+	+	+	+	+	–	–	К	–
Btk	32-04	+	+	+	±	+	+	–	+	±	+	–	К	–
Btk	50-04	+	+	+	±	+	+	–	+	±	+	–	К	–
Btk	18-05	+	+	±	–	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Btk	09-01-40	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	–	К	–
Btk	32-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	К	–
Btk	63-04	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	–	К	–
Btk	41-18	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	–	К	–
Btk	100-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	К	–
Btk	118-17	+	+	±	+	+	+	+	+	±	+	–	К	–
Btk	78-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	–	К	–
Btk	31-04	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	–	К	–
Btk	5-18	+	+	+	±	+	+	+	+	±	±	–	К	–
Btg	Sn-50	+	+	+	±	+	–	+	+	±	±	–	К	–
Btg	Sn-56	+	+	+	±	+	–	+	+	±	±	–	К	–
Btg	Sn-60	+	+	+	±	+	–	+	+	±	±	–	К	–
Btg	Sn-66	+	+	+	±	+	–	+	+	±	±	–	К	–
Bt	Cb-527	+	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
Btg	B-996	+	+	+	+	+	–	+	+	±	+	–	К	–
Btg	B-997	+	+	+	+	+	–	+	+	±	+	–	К	–
Btk	B-916	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	–	К	–
<i>B. cereus</i> *		–	+	–	+	+	+	–	+	+	+	–	К	–
<i>B. anthracis</i> *		–	+	+	+	+	–	+	–	–	–	+	К	–
<i>B. thuringiensis</i> *		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	К	–

Примечание: * по [31]; «+» – положительная реакция; «–» – отрицательная реакция; «±» – слабо выраженная реакция; «К» – гидролиз углевода с образованием кислоты; Bc – *Bacillus cereus*; Bt – *Bacillus thuringiensis*; Btk – *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*; Btg – *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae*.

[Note: * according to [31]; “+” Positive reaction; “–” Negative reaction; “±” - Weakly expressed reaction; “K” - Hydrolysis of carbohydrate to form an acid; Bc - *Bacillus cereus*; Bt - *Bacillus thuringiensis*; Btk - *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*; Btg - *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae*].

Сведения по резистентности к антибиотикам одинаково важны как при использовании микроорганизмов в биотехнологических процессах в качестве, например, селективного агента, так и для возможности ограничения развития вызываемых ими инфекций. Данные по резистентности исследуемых штаммов к антибиотикам представлены в табл. 3.

Таблица 3 [Table 3]

Чувствительность штаммов *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis* к антибиотикам
[Sensitivity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* strains to antibiotics]

Штамм [Strain]	Антибиотики (мкг/диск)/ зона подавления роста в мм [Antibiotics (µg / disc) / growth inhibition zone in mm]													
	Ванкомицин (30) [Vancomycin]	Клиндамицин (2) [Clindamycin]	Левовофлоксацин (30) [Levofloxacin]	Ципрофлоксацин (30) [Ciprofloxacin]	Гентамицин (10) [Gentamicin]	Линкомицин (15) [Lincomycin]	Амикацин (30) [Amikacin]	Канамицин (30) [Kanamycin]	Цефаклор (30) [Cefaclor]	Цефалексин (30) [Cephalexin]	Цефалотин (30) [Cephathin]	Рифамицин (5) [Rifampicin]	Меропенем (10) [Meropenem]	Фузидин (10) [Fuzidin]
Bc B 1367	22	22	25	25	20	12	20	20	25	18	15	12	17	18
Bc B-277	15	16	20	14	20	15	20	15	0	18	0	10	10	12
Bc Cb 946	0	19	22	24	24	0	12	0	15	22	0	12	0	15
Bc Cb 958	18	19	23	27	20	10	23	14	23	10	0	10	20	15
Bc Cb 989	30	15	30	27	0	10	0	35	35	12	14	16	20	20
Bc Cg 45	17	23	20	11	18	0	20	16	0	12	0	0	11	11
Bc Cg 42	13	0	0	20	12	0	0	15	0	16	0	0	12	12
Bc Cg 42	15	22	0	20	21	12	19	14	0	18	0	14	17	11
Bc Cg 39	8	0	14	27	11	12	25	15	28	15	12	15	24	22
Bc Cg 46	12	0	15	25	20	10	20	23	25	15	10	15	18	20
Btk 24-17	17	21	25	24	19	0	21	0	0	0	0	14	0	0
Btk 18-05	20	26	24	30	25	18	0	13	12	10	0	18	16	20
Btk 32-04	0	20	16	28	20	20	16	12	0	0	0	10	0	0
Btk 50-04	0	24	28	15	22	12	24	18	15	20	9	15	0	25
Btk 18-15	17	19	20	12	0	9	11	0	0	0	0	12	9	11
Btk 01-40	18	0	25	29	21	17	19	15	0	15	0	0	19	20
Btk 32-04	19	21	25	30	21	0	0	0	0	20	0	15	22	17
Btk 63-04	16	21	24	21	18	0	15	0	0	0	0	14	0	15
Btk 41-18	17	23	24	12	22	13	14	15	11	23	20	16	21	20
Btk 100-04	20	24	28	26	25	25	25	20	0	17	0	10	15	23
Btk 118-17	20	20	24	24	22	18	22	20	10	16	0	20	20	20
Btk 78-04	20	24	0	27	0	0	21	14	9	0	0	11	0	20
Btk 31-04	10	19	26	25	24	19	25	0	0	0	0	12	13	15
Btk 5-18	11	10	11	18	21	18	10	0	0	0	0	8	0	19
Bt Cb-527	17	20	20	23	21	0	21	20	20	20	27	12	14	12
Btg Sn-50	11	10	16	10	9	11	11	0	0	0	0	10	0	12
Btg Sn-56	17	24	22	24	20	16	18	13	0	0	0	14	14	12
Btg Sn-60	19	25	25	26	19	10	9	9	0	0	0	10	0	13
Btg Sn-66	17	23	23	0	21	13	10	17	0	0	0	11	9	12
Btk B-916	19	23	19	20	19	0	14	0	10	0	0	18	0	19
Btg B-996	0	26	23	0	20	20	19	18	10	15	10	10	0	10
Btg B-997	20	23	25	0	24	13	11	15	0	0	13	24	12	15

Примечание [Note]: Bc – *Bacillus cereus*; Bt – *Bacillus thuringiensis*; Btk – *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*; Btg – *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae*.

В многочисленных литературных источниках отмечается, что большинство изолятов *B. cereus* устойчиво к пенициллинам и цефалоспорином, что рассматривается как следствие продукции β -лактамаз [32]. Ряд работ, касающихся изучения чувствительности штаммов *B. cereus* к антибиотикам, показывает, что за последние десятилетия к некоторым из препаратов начинает формироваться резистентность, не характерная ранее [33]. Исследования последних лет свидетельствуют о присутствии бактерий вида *B. cereus*, содержащих как множественные гены токсина, так и проявляющих мультиустойчивость к антибиотикам, в природных источниках и в качестве контаминантов различных продуктов [34].

Выяснено, что все исследуемые в настоящей работе штаммы *Bc* и *Bt* резистентны к полимиксину, оксациллину, бензилпенициллину, а также к цефуроксиму (данные в таблицу не внесены), что согласуется с литературными сведениями [33]. Исключение составляли штаммы *Bc* В-1367 и *Bt* Сб-527, проявившие к данным антибиотикам высокую чувствительность. Большая часть штаммов оказалась резистентной к цефалоспорином (цефалексину, цефалотину и цефаклору). Важно отметить, что выделенные из аэрозолей штаммы *Bc*, кроме штамма *Bc* Сг-45, показали высокую чувствительность к ципрофлоксацину, но очень отличались по восприимчивости к ванкомицину, отмеченным на практике как антибиотики резерва, эффективные в лечении инфекции *B. cereus* (см. табл. 3). Высокую чувствительность все штаммы *Bc* и *Bt* проявили к рокситромицину, эритромицину и, за исключением штамма *Bt* 24-17, к линезолиду (данные в табл. 3 не приведены). Кроме штаммов *Bt* Сб-527 и *Bc* В-1367, все исследуемые штаммы цереусной группы оказались полирезистентными, проявляя устойчивость к шести–пятнадцати антибиотикам.

Антибиотическая активность. В разной степени выделенные из аэрозолей штаммы *Bt* и *Bc* подавляли рост патогенных дрожжей *C. albicans*, наибольшую активность проявили штаммы *Btk* 24-17, 18-15, 09-01-40, 63-04 (табл. 4). Антифунгальное действие штаммов *Bt* обуславливается продукцией ферментов из класса гидролаз и антибиотических соединений [35]. Штамм *Bt* Сб-527 и ряд штаммов *Bc* дополнительно эффективно угнетали рост грамположительных тест-штаммов *S. aureus*, *B. subtilis*. Грамотрицательные тест-штаммы проявили значительно меньшую чувствительность к антибиотическому действию штаммов *Bt* и *Bc*: угнетение роста штамма *E. coli* наблюдали под воздействием секретируемых метаболитов штаммов *Btk* 5-18, 41-18, 09-01-40; штаммы *Btk* 24-17, 63-04, 118-17 и 5-18 ограничивали рост штамма *S. typhimurium*. Штамм *K. pneumoniae* проявил резистентность относительно всех штаммов *Bt* и *Bc*, используемых в опыте. Следует отметить также, что типовой коллекционный штамм *Bc* В-1367 значительно уступал природным аэроизолятам по устойчивости к антибиотикам и антимикробной активности (см. табл. 3, 4).

Противомикробная активность бактерий цереусной группы, в частности *B. thuringiensis*, ранее показана по отношению к бактериям *Bacillus subtilis*,

Erwinia herbicola, *Erwinia amylovory*, *Pantoea agglomerans*, *Enterococcus avium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilis*, *Bacillus thuringiensis* [36], противогрибковая активность – по отношению к грибам рода *Aspergillus* [35]. Известна также литическая активность *B. cereus* к цианобактериям [37], показана продукция штаммов *B. cereus* UW85 двух фунгистатических антибиотиков, подавляющих рост патогенного гриба *Phytophthora medicaginis* [39]. Подтверждение сведений об активности бактерий цереусной группы против близкородственных бактерий [19, 35] – антагонизм штаммов *B. thuringiensis* ssp. *galleriae* В-996 и В-997 по отношению к штаммам *B. cereus* В-277 и В-1367. Зона лизиса этих бактерий под влиянием секретируемых метаболитов штаммов *Btg* В-996 и В-997 при применении метода отсроченного антагонизма составляла 16 мм (данные в табл. 3 не внесены). Зоны угнетения роста тест-штаммов в условиях проведенного опыта менее 10 мм пренебрежимо малы и отнесены к отрицательным результатам.

Таблица 4 [Table 4]

**Антибиотическая активность штаммов *Bacillus cereus* и *Bacillus thuringiensis*,
выделенных из атмосферных аэрозолей**
[Antibiotic activity of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis*
strains isolated from atmospheric aerosols]

Штамм [Strain]		Тест-штаммы патогенов / зона угнетения роста, мм [Test strains of pathogens / zone of growth inhibition, mm]						
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bc</i>	В-1367	0	0	24	0	0	0	0
<i>Bc</i>	В-277	20	12	25	0	0	OR	OR
<i>Bc</i>	Сb-946	30	25	25	0	0	0	OR
<i>Bc</i>	Сb-958	25	25	23	0	0	0	0
<i>Bc</i>	Сb-989	0	0	26	0	0	OR	OR
<i>Bc</i>	Сg-45	0	0	10	0	0	0	0
<i>Bc</i>	Сg-42	30	25	23	0	0	0	0
<i>Bc</i>	Сg-39	20	30	15	0	0	0	0
<i>Bc</i>	Сg-46	25	25	26	5	0	0	0
<i>Btk</i>	24-17	7	0	41	0	0	17	5
<i>Btk</i>	18-15	11	0	45	0	0	12	5
<i>Btk</i>	32-04	6	0	35	0	0	10	6
<i>Btk</i>	50-04	5	0	30	0	6	4	4
<i>Btk</i>	09-01-40	7	0	46	0	17	11	4
<i>Btk</i>	32-04	6	0	35	0	30	10	6
<i>Btk</i>	63-04	4	0	40	0	4	20	8
<i>Btk</i>	41-18	5	0	42	0	30	10	7
<i>Btk</i>	100-04	3	0	40	0	16	6	7
<i>Btk</i>	118-17	6	6	25	0	0	25	6

Окончание табл. 4 [Table 4 (end)]

Штамм [Strain]		Тест-штаммы патогенов / зона угнетения роста, мм [Test strains of pathogens / zone of growth inhibition, mm]						
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella sonnei</i>
Btk	78-04	9	0	41	0	6	14	5
Btk	31-04	3	0	28	0	6	4	4
Btk	5-18	10	0	30	0	33	30	11
Bt	Cb-527	30	25	22	0	0	0	0
Btg	Sn-50	0	0	40	0	0	0	0
Btg	Sn-56	0	0	25	0	0	0	0
Btg	Sn-60	7	0	40	0	0	0	0
Btg	Sn-66	7	0	20	0	0	0	0
Btk	B-916	5	0	40	0	0	5	0
Btg	B-996	7	15	45	0	0	7	0
Btg	B-997	7	10	40	0	0	7	0

Примечание [Note]: Bc – *Bacillus cereus*; Bt – *Bacillus thuringiensis*; Btk – *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*; Btg – *Bacillus thuringiensis* ssp. *galleriae*; OR – ослабление роста [the weakening of growth].

Штамм Cb-527, идентифицированный согласно фенотипическим признакам как *Bacillus thuringiensis* (колл. № B-1378), в отличие от других выделенных штаммов Bt имел неподвижные клетки, при культивировании в жидкой среде на термостатированной качалке образующие крупные агрегаты (хлопья) (рис. 4, A), которые при прекращении перемешивания среды в короткое время осаждались в виде рыхлого осадка (рис. 4, B). Есть мнение, что агрегация клеток может быть стратегией повышения их выживаемости в суровых условиях, таких, например, как высокая доза ультрафиолетового излучения на большой высоте [9]. Клетки штамма Bt Cb-527 образовывали мощные капсулы (рис. 4, C), что не характерно для типовых штаммов Bt, процесс активного образования эндоспор и параспоральных кристаллов при его выращивании в жидкой среде при температуре 37 °C начинался уже к 24 ч культивирования (у других выделенных штаммов Bt – на 3–5-е сутки).

Штамм Bt Cb-527 отличался также от других изолированных из аэрозолей штаммов Bt высокой чувствительностью к антибиотическим препаратам (к 17 из 21 антибиотика, использованного в опыте). В отличие от остальных штаммов Bt штамм Bt Cb-527 имел сходную со штаммами Bc высокую антимикробную активность относительно грамположительных штаммов *S. aureus*, *B. subtilis* (см. табл. 3). Обнаруженные особенности штамма Bt Cb-527 могут быть обусловлены характерным для цереусной группы обменом плазмидами как между *B. thuringiensis*, так и другими близкородственными видами, принадлежащими к группе *Bacillus cereus* [39]. Плазмидные ДНК представляют особый интерес как содержащие внехромосомные гены резистентности к

антибиотикам и другим факторам среды обитания. Анализ штаммов *Bt* и *Bc*, изолированных из аэрозолей, показал, что как характерно для этих видов [39], все они содержат плазмиды. Электрофореграммы, отражающие состав плазмидных ДНК и их подвижность, для всех штаммов оказались достаточно сходными. Анализ, подтверждающий резистентность штаммов к антибиотикам в зависимости от состава и наличия плазмид, в настоящей работе не проводили.

Штамм *Bt* Cb-527 продуцировал комплекс РНКаз с концентрацией до 350–400 е.а./мл культуральной жидкости (КЖ). Ранее проведенными экспериментами нами показана противовирусная активность отдельных фракций КЖ штаммов *B. thuringiensis*, содержащих внеклеточные низкомолекулярные (от 15 до 20 кДа) и высокомолекулярные РНКазы (порядка 55 кДа), по отношению к вирусу гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) и вирусу гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) [40], что согласуется с литературными данными о противовирусной активности бактериальных РНКаз против вирусов, в качестве нуклеиновой кислоты содержащих РНК [41]. Высокая концентрация РНКаз, секретируемых штаммом *B. thuringiensis* Cb-527, свидетельствует о перспективности его использования для разработки препаратов, направленных на подавление размножения РНК-содержащих вирусов. Дополнительные исследования позволят более точно идентифицировать штамм *Bt* Cb-527 и оптимизировать возможности его биотехнологического применения в качестве противовирусного средства.

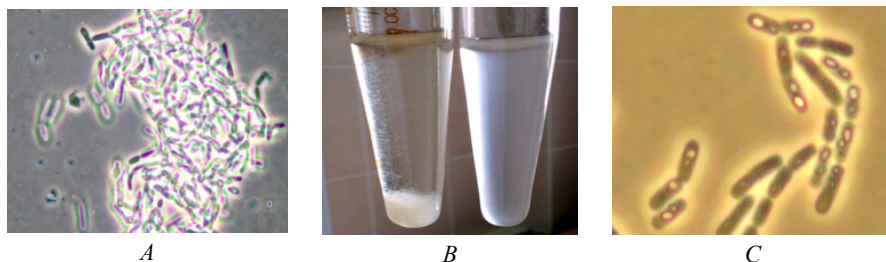


Рис. 4. Морфология клеток и особенности роста штамма *Bacillus thuringiensis* Cb-527 в жидкой среде (фото И.С. Андреевой): *A* – клетки штамма *B. thuringiensis* Cb-527 в скоплениях (хлопьях) при культивировании в жидкой среде (фазовый контраст, $\times 2500$); *B* – осадок клеток штамма *B. thuringiensis* Cb-527 при культивировании в жидкой среде (слева), – штамм *Bacillus cereus* B-277, среда равномерно мутная (справа); *C* – кристаллы, споры и капсулы клеток штамма *B. thuringiensis* Cb-527 (фазовый контраст, $\times 2500$)

[Fig. 4. The morphology of cells and the growth characteristics of strain *Bacillus thuringiensis* Cb-527 in a liquid medium (Photo by Irina Andreeva): *A*. *B. thuringiensis* Cb-527 strain cells in clusters (flakes) when cultured in a liquid medium (phase contrast, $\times 2500$); *B*. On the left - The sediment of cells of the *B. thuringiensis* Cb-527 strain when cultured in a liquid medium; on the right - the *Bacillus cereus* B-277 strain, the medium is uniformly turbid; *C*. Crystals, spores and capsules of *B. thuringiensis* Cb-527 (phase contrast, $\times 2500$)]

Заключение

В результате многолетнего мониторинга биогенной компоненты атмосферы Новосибирской области, расположенной на юге Западной Сибири, показано, что значение концентрации микроорганизмов в исследуемых аэрозолях колебалось в разных пробах в среднем от менее единицы до 5×10^5 КОЕ/м³. Численность культивируемых спорообразующих бактерий, включая бактерии группы цереус, в разные временные периоды также была переменчива, титр выделяемых изолятов в разных пробах мог отличаться на 5 порядков.

В исследованных образцах выделены бактерии *B. cereus* и *B. thuringiensis*, в том числе подвидов *Bt ssp. kurstaki*, *Bt ssp. galleriae*. Показано характерное для представителей этих таксонов наличие таких ферментов агрессии, как фосфолипазы, гемолизины, протеазы, нуклеолитические ферменты. За исключением штаммов *Bc* B-1367 и *Bt* Cb-527, все штаммы аэроизолятов *B. cereus* и *B. thuringiensis* проявили множественную устойчивость по отношению к антибиотикам, подтверждая литературные данные о все большем распространении полирезистентности среди выявляемых природных микробных изолятов. Выраженная антибиотическая активность штаммов *B. cereus* и *B. thuringiensis* показана относительно возбудителя кандидозов *Candida albicans* и грамположительных штаммов *S. aureus* и *B. subtilis*, в единичных случаях – против штаммов *B. cereus*.

Из аэрозолей атмосферного воздуха выделен атипичный новый штамм *B. thuringiensis* Cb-527, обладающий высокой продукцией РНКаз, что позволяет рекомендовать его для разработки противовирусных препаратов против РНК содержащих вирусов. Штаммы *B. cereus* и *B. thuringiensis*, проявившие выраженную ферментативную, антибиотическую активность, депонированы в Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора для дальнейших разработок в качестве источников ферментов и соединений, ингибирующих развитие патогенных микроорганизмов и вирусов.

Литература

1. Smets W., Moretti S., Denys S., Lebeer S. Airborne bacteria in the atmosphere: Presence, purpose, and potential // *Atmospheric Environment*. 2016. Vol. 139. PP. 214–221. doi: [10.1016/j.atmosenv.2016.05.038](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.038)
2. Wei K., Zheng Y., Li J., Shen F., Zou Z., Fan H., Li X., Wu C., Yao M. Microbial aerosol characteristics in highly polluted and near-pristine environments featuring different climatic conditions// *Science Bulletin*. 2015. Vol. 60. PP. 1439–1447. doi: [10.1007/s11434-015-0868-y](https://doi.org/10.1007/s11434-015-0868-y)
3. Soleimani Z., Goudarzi G., Sorooshian A., Marzouni M.B., Maleki H. Impact of Middle Eastern dust storms on indoor and outdoor composition of bioaerosol // *Atmospheric Environment*. 2016. Vol. 138. PP. 135–143. doi: [10.1016/j.atmosenv.2016.05.023](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.023)
4. Akila M., Priyamvada H., Ravikrishna R., Gunthe S.S. Characterization of bacterial diversity and ice-nucleating ability during different monsoon seasons over a southern tropical Indian region // *Atmospheric Environment*. 2018. Vol. 191. PP. 387–394. doi: [10.1016/j.atmosenv.2018.08.026](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.08.026)

5. Madsen A.M., Zervas A., Tendal K., Nielsen J.L. Microbial diversity in bioaerosol samples causing ODS compared to reference bioaerosol samples as measured using Illumina sequencing and MALDI-TOF // *Environmental Research*. 2015. Vol. 140. PP. 255–267. doi: [10.1016/j.envres.2015.03.027](https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.027)
6. Kobayashi F., Maki T., Kakikawa M., Yamada M., Puspitasari F., Iwasaka Y. Bioprocess of Kosa bioaerosols: Effect of ultraviolet radiation on airborne bacteria within Kosa (Asian dust) // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2015. Vol. 119, № 5. PP. 570–579. doi: [10.1016/j.jbiosc.2014.10.015](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.10.015)
7. Griffin D.W. Terrestrial microorganisms at an altitude of 20,000 m in Earth's atmosphere // *Aerobiologia*. 2000. Vol. 20, № 2. PP. 135–140. doi: [10.1023/B:AERO.0000032948.84077.12](https://doi.org/10.1023/B:AERO.0000032948.84077.12)
8. Griffin D.W. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health // *Clinical Microbiology Reviews*. 2007. Vol. 20, № 3. PP. 459–477. doi: [10.1128/CMR.00039-06](https://doi.org/10.1128/CMR.00039-06)
9. Yang Y., Itahashi S., Yokobori S.I., Yamagishi A. UV-resistant bacteria isolated from upper troposphere and lower stratosphere // *Biological Science in Space*. 2008. Vol. 22. PP. 18–25. doi: [10.2187/bss.22.18](https://doi.org/10.2187/bss.22.18)
10. Yoo K., Han I., Ko K.S., Lee T.K., Yoo H., Khan M.I., Tiedje J.M., Park J. *Bacillus*-dominant airborne bacterial communities identified during Asian dust events // *Microbial Ecology*. 2019. Vol. 78. PP. 677–687. doi: [10.1007/s00248-019-01348-0](https://doi.org/10.1007/s00248-019-01348-0)
11. Liu Y., Du J., Lai Q., Zeng R., Ye D., Xu J., Shao Z. Proposal of nine novel species of the *Bacillus cereus* group // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2017. Vol. 67, № 8. PP. 2499–2508. doi: [10.1099/ijsem.0.001821](https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001821)
12. Buehler A.J., Martin N.H., Boor K.J., Wiedmann M. Psychrotolerant spore-former growth characterization for the development of a dairy spoilage predictive model // *Journal of Dairy Science*. 2018. Vol. 101, № 8. PP. 6964–6981. doi: [10.3168/jds.2018-14501](https://doi.org/10.3168/jds.2018-14501)
13. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / под ред. В.В. Глупова. М. : Круглый год, 2001. 736 с.
14. Ramarao N., Lereclus D., Sorokin A. The *Bacillus cereus* group // *Molecular Medical Microbiology* / eds by Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, J. Schwartzman. Vol. 2, Chapter 59. New York : Elsevier, 2015. PP. 1041–1078.
15. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen // *Clinical Microbiology Reviews*. 2010. Vol. 23, № 2. PP. 382–398. doi: [10.1128/CMR.00073-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09)
16. Williams L.D., Burdock G.A., Jiménez G., Castillo M. Literature review on the safety of Toyocerin, a non-toxicogenic and non-pathogenic *Bacillus cereus* var. toyoi preparation // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009. Vol. 55, № 2. PP. 236–246. doi: [10.1016/j.yrtph.2009.07.009](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.07.009)
17. Похиленко В.Д., Перелыгин В.В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // *Химическая и биологическая безопасность*. 2007. № 2-3. С. 20–41. URL: http://www.cbsafety.ru/rus/saf_32_2f.pdf (дата обращения: 08.11.2021).
18. Мефёд К.М., Осипова И.Г., Васильева Е.А. Результаты сравнительного исследования новых ветеринарных пробиотиков ирилис и пацифлор // *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина*. 2006. № 2. С. 27–31. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/rezultaty-sravnitel'nogo-issledovaniya-novyh-veterinarnyh-probiotikov-irilis-i-patsiflor/viewer> (дата обращения: 08.11.2021).
19. Yeo I.C., Lee N.K., Cha C.-J., Hahm Y.T. Narrow antagonistic activity of antimicrobial peptide from *Bacillus subtilis* SCK-2 against *Bacillus cereus* // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2011. Vol. 112, № 4. PP. 338–344. doi: [10.1016/j.jbiosc.2011.06.011](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.011)
20. Safatov A.S., Andreeva I.S., Buryak G.A., Marchenko V.V., Ol'kin S.E., Reznikova I.K., Repin V.E., Sergeev A.N., Belan B.D., Panchenko M.V. Tropospheric bioaerosols of Southwestern Siberia: Their concentrations and variability, distributions and long-term

- dynamics // *Nucleation and Atmospheric Aerosols* / eds by C.D. O'Dowd, P.E. Wagner. Dordrecht : Springer, 2007. PP. 741–745. doi: [10.1007/978-1-4020-6475-3_146](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6475-3_146)
21. Андреева И.С., Сафатов А.С., Пучкова Л.И., Емельянова Е.К., Буряк Г.А., Олькин С.Е., Резникова И.К., Охлопкова О.В. Культивируемые микроорганизмы в высотных пробах аэрозолей воздуха севера Сибири в ходе самолетного зондирования атмосферы // *Вестник Нижневартовского государственного университета*. 2019. № 2. С. 3–11. doi: [10.36906/2311-4444/19-2/01](https://doi.org/10.36906/2311-4444/19-2/01); URL: <https://e.lanbook.com/journal/issue/312018> (дата обращения: 08.11.2021).
 22. Andreeva I.S., Safatov A.S., Morozova V.V., Tikunova N.V., Emelyanova E.K., Solovyanova N.A., Babkin I.V., Buryak G.A., Puchkova L.I. Saprophytic and pathogenic yeasts in atmospheric aerosols of Southwestern Siberia // *Atmospheric and Oceanic Optics*. 2020. Vol. 33, № 5. PP. 505–511. doi: [10.1134/S1024856020050024](https://doi.org/10.1134/S1024856020050024)
 23. Gusareva E.S., Gaultier N.P.E., Premkrishnan B.N.V., Kee C., Lim S.B.Y., Heinle C.E., Purbojati R.W., Nee A.P., Loha S.R., Yanqing K., Kharkov V.N., Drautz-Moses D.I., Stepanov V.A., Schuster S.C. Taxonomic composition and seasonal dynamics of the air microbiome in West Siberia // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, № 1. PP. 21515. doi: [10.1038/s41598-020-78604-8](https://doi.org/10.1038/s41598-020-78604-8)
 24. Методы общей бактериологии. Т. 3 / под ред. Ф. Герхарда, Р. Мюррэя, Р. Костилоу, Ю. Нестера, В. Вуда, Н. Крига, Г. Филиппа. М. : Мир, 1984. 264 с.
 25. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 3. The Firmicutes / eds by P. Vos, G. Garrity, D. Jones, N.R. Krieg, W. Ludwig, F.A. Rainey, W.B. Whitman. Springer-Verlag, 2009. 1450 p.
 26. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М. : Мир, 1984. 480 с.
 27. Yasuda T., Nadano D., Tenjo E., Takeshita H., Kishi K. The zymogram method for detection of ribonucleases after isoelectric focusing: analysis of multiple forms of human, bovine, and microbial enzymes // *Anal. Biochem*. 1992. № 206 (1). PP. 172–177. doi: [10.1016/s0003-2697\(05\)80029-6](https://doi.org/10.1016/s0003-2697(05)80029-6)
 28. Singh V., Haque S., Singh H., Verma J., Vibha K., Singh R., Jawed A., Tripathi CR.M. Isolation, Screening, and Identification of Novel Isolates of *Actinomycetes* from India for Antimicrobial Applications // *Front. Microbiol*. 2016. № 7. PP. 1–9. doi: [10.3389/fmicb.2016.01921](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01921)
 29. Wang Y., Qian P.-Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies // *PLoS One*. 2009. Vol. 10. Articlee 7401. doi: [10.1371/journal.pone.0007401](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401)
 30. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л. : Медгиз, 1962. 180 с.
 31. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Кн. II / под ред. А.С. Лабинской, Н.Н. Костюковой, С.М. Ивановой. М. : БИНОМ, 2010. 1152 с.
 32. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen // *Clinical Microbiology Review*. 2010. Vol. 23, № 2. PP. 382–398. doi: [10.1128/CMR00073-09](https://doi.org/10.1128/CMR00073-09)
 33. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. М. : Боргес, 2002. 432 с.
 34. Yibar A., Çetinkaya F., Soyutemiz E., Yaman G. Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese // *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2017. Vol. 23, № 4. PP. 635–642. doi: [10.9775/kvfd.2017.17480](https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.17480)
 35. Kumar S.N., Mohandas C., Nambisan B. Purification of an antifungal compound, cyclo(l-Pro-d-Leu) for cereals produced by *Bacillus cereus* subsp. *thuringiensis* associated with entomopathogenic nematode // *Microbiological Research*. 2013. Vol. 168, № 5. PP. 278–288. doi: [10.1016/j.micres.2012.12.003](https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.003)

36. Zheng D., Zeng Z., Xue B., Deng Y., Sun M., Tang Y.-J., Ruan L. *Bacillus thuringiensis* produces the lipopeptide thumolycin to antagonize microbes and nematodes // Microbiological Research. 2018. Vol. 215. PP. 22–28. doi: [10.1016/j.micres.2018.06.004](https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.06.004)
37. Nakamura N., Nakano K., Sugiura N., Matsumura M. A novel cyanobacteriolytic bacterium, *Bacillus cereus*, isolated from a Eutrophic Lake // Journal of Bioscience and Bioengineering. 2003. Vol. 95, № 2. PP. 179–184. doi: [10.1016/s1389-1723\(03\)80125-1](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(03)80125-1)
38. Silo-Suh L.A., Lethbridge B.J., Raffel S.J., He H., Clardy J., Handelsman J.O. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85 // Applied and Environmental Microbiology. 1994. Vol. 60, № 6. PP. 2023–2030. doi: [0.1128/aem.60.6.2023-2030.1994](https://doi.org/10.1128/aem.60.6.2023-2030.1994)
39. Vilas-Bôas G.T., Santos C.A. Conjugation in *Bacillus thuringiensis*: Insights into the plasmids exchange process // *Bacillus thuringiensis* Biotechnology / ed. by E. Sansinenea. Dordrecht : Springer, 2012. doi: [10.1007/978-94-007-3021-2_8](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3021-2_8)
40. Андреева И.С., Закабунин А.С. Исследование внеклеточных нуклеотических ферментов штаммов *Bacillus thuringiensis* методом зимографии // Colloquium-Journal. 2017. № 2 (2). С. 7–14. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28922173> (дата обращения: 16.11.2021).
41. Shah Mahmud R., Ilinskaya O.N. Antiviral activity of binase against pandemic influenza A (H1N1) virus // Acta Naturae. 2013. Vol. 5, № 4 (19). PP. 44–51. doi: [10.32607/20758251-2013-5-4-44-51](https://doi.org/10.32607/20758251-2013-5-4-44-51)

Поступила в редакцию 04.04.2021 г.; повторно 17.08.2021 г.;
принята 25.11.2021 г.; опубликована 29.12.2021 г.

Авторский коллектив:

Андреева Ирина Сергеевна, канд. биол. наук, доцент, в.н.с. отдела биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: andreeva_is@vector.nsc.ru

Сафатов Александр Сергеевич, д-р техн. наук, зав. отделом биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: safatov@vector.nsc.ru

Пучкова Лариса Ивановна, канд. биол. наук, в.н.с. отдела биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: puchkova@vector.nsc.ru

Емельянова Елена Константиновна, канд. биол. наук, с.н.с. отдела биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область); доцент кафедры гигиены и экологии, Новосибирский государственный медицинский университет (Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52).

E-mail: emelen1@yandex.ru

Соловьянова Надежда Алексеевна, н.с. отдела биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: solovyanova_na@vector.nsc.ru

Буряк Галина Алексеевна, н.с. отдела биофизики и экологических исследований, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: buryak@vector.nsc.ru

Терновой Владимир Александрович, канд. биол. наук, зав. лабораторией отдела молекулярной вирусологии, Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область).

E-mail: tern@vector.nsc.ru

For citation: Andreeva IS, Safatov AS, Puchkova LI, Emelyanova EK, Solovyanova NA, Buryak GA, Ternovoi VA. Occurrence and characteristics of *Bacillus cereus* group bacterial atmospheric aerosols in Novosibirsk region. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;56:60-85. doi: 10.17223/19988591/56/3

Irina S. Andreeva¹, Aleksandr S. Safatov¹, Larisa I. Puchkova¹, Elena K. Emelyanova^{1,2}, Nadezda A. Solovyanova¹, Galina A. Buryak¹, Vladimir A. Ternovoi¹

¹State Scientific Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" of Rosпотребнадзор, Koltsovo, Novosibirsk region, Russian Federation

²Novosibirsk State Medical University of the Ministry of Health, Novosibirsk, Russian Federation

Occurrence and characteristics of *Bacillus cereus* group bacterial atmospheric aerosols in Novosibirsk region

The microbial diversity of atmospheric bioaerosols involves microorganisms that can cause allergic and infectious diseases or toxic effects. They include bacteria of the *Bacillus cereus* group (*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, etc.), which can result in diarrhea, pneumonia, meningitis, septicemia, and other infectious diseases. Accordingly, monitoring the presence of *Bacillus cereus* group bacteria in aerosols is critical. However, practically no data exist on *Bacillus cereus* and other cereus-group bacteria in southwestern Siberia's poorly investigated atmospheric aerosol environment. Bacteria of the cereus group are capable of effective production of various biologically active compounds, with important implications for biotechnology; microorganism strains with new capabilities are being investigated. This study aimed to determine the occurrence and characteristics of *B. cereus* group bacteria in ground-level and high-altitude atmospheric aerosols in Novosibirsk region of southwestern Siberia, and to evaluate the biotechnological potential of the obtained microbial isolates.

High-altitude atmospheric samples were collected over Karakan Pine Forest, approximately 50 km south of Novosibirsk, at altitudes of 7000, 5500, 4000, 2000, 1500, 1000, and 500 m, by aircraft sounding. Boundaries of the aircraft flight path: 54° 26'38" N, 82° 30'47" E; 54°10'55" N, 81° 44'00" E. Ground-level samples were collected at various sites in Koltsovo settlement, Novosibirsk region. Impingers with a flow rate of 50 L/min containing 50 ml of Hanks' solution were used for air sampling. The obtained aerosol samples were sown on a set of nutrient media and incubated at 28–30°C and 6–10 °C. The titers of microorganisms in high-altitude and ground-level samples were determined in terms of 1 m³ of atmospheric air. Standard microbiological methods were employed to study the phenotypic characteristics of the identified microbial isolates. Lipolytic activity was determined on yolk agar and LB agarized medium containing fatty acid esters with 0.01% CaCl₂. The substrates used were 1.0% monolaurate (tween-20) and monooleate (tween-80). Amylolytic activity of the cultures was determined by their isolation on starch-ammonia agar, and proteolytic activity by their ability to hydrolyse milk gelatin and casein (Maniatis T et al., 1984). The ability to hemolysis was taken into account when cultures were plated on LB medium with the addition of ram's blood. Nuclease activity was studied on LB medium with the addition of Sigma DNA (USA) (Maniatis T et al., 1984). The content of plasmid DNA in the isolates was determined

by screening according to Maniatis T et al. (1984). The capacity for RNAase secretion in culture medium (peptone - 9.27 g/l, yeast extract - 5 g/l, NaCl - 3.00; 10 ml of 50% glycerin, 2 ml of 20% glucose; pH 7.07.2) during cultivation of bacteria at 30 °C, for 18-24 h, was determined by the accumulation of acid-soluble products, formed upon hydrolysis of high-polymer RNA of yeast (1 mg/ml). Antibiotic activity of the studied strains was determined by cross-striks (Yasuda T et al., 1992) on LB medium at 37 °C. The following pathogenic test strains were used: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* 620, *Klebsiella pneumoniae* B-4894, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* 2606, and *Shigella sonnei* 32 (collection of FSBI State Research Centre Vektor of the Rospotrebnadzor). The genetic analysis of bacterial isolates was performed using PCR with specific primers on 16S rRNA. The calculation of the number of cultivated microorganisms in the samples was carried out according to the Kerber method [Bottone EJ, 2010], and the number of microorganisms was averaged over three parallels of the inoculated samples. The annual average numbers of cultivated microorganisms were calculated as a mean $\pm$ the confidence interval at a significance level of 95% of *t*-Student's ($p < 0.05$).

Percentages of spore-forming cultured bacteria in aerosol samples varied significantly across the years of observation (1998–present): in high-altitude samples, the minimum and maximum were 0.5% (in 2005) and 55% (in 2011), respectively, and, in ground-level samples, the minimum and maximum were 0.1% (in 2002) and 83% (in 2016), respectively (See Fig. 1 and 2). Annual averages of total concentration of microorganisms ranged from < 1 to 5×10^5 CFU/m³. The number of cereus-group bacteria also varied significantly from sample to sample, with averages ranging from 0.01% to 6.5% of the total number of isolated microorganisms. A total of 2,025 bacterial isolates, of which 62 formed endospores, were isolated from ground-level and high-altitude aerosol samples collected during the predominance of south-westerly winds from Kazakhstan in autumn 2016, and were characterized by increased dust-component content. Spore-forming bacteria were identified as belonging to the genera *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Lysinibacillus*, and some others. Both high-altitude and ground-level aerosol samples were shown to contain bacteria of the cereus group: *Bacillus cereus* (Bc) and *Bacillus thuringiensis* (Bt), Bt ssp. *kurstaki*, Bt ssp. *galleriae* subspecies; Bt strains with indefinite serotype were also found. Notably, *Bacillus anthracis* species were not found (See Table 1). Screening for enzyme secretion revealed Bt and Bc strains with pronounced proteolytic, phosphatase, lipolytic, and amylolytic activities in a medium pH range from 5.0 to 9.0 (See Table 2). An atypical strain of *B. thuringiensis* Cb-527, which demonstrates high production of RNase, was isolated. All strains demonstrated hemolysis capability, were multi-resistant to antibiotics (resistant to 6-15 drugs (See Table 3), and suppressed the growth of the pathogenic yeast, *Candida albicans*, to varying degrees. The Bt Cb-527 strain, as well as several Bc strains, also effectively inhibited the growth of Gram-positive test strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. Gram-negative bacterial test strains were low-sensitive to the action of metabolites of the studied Bc and Bt strains (See Table 4).

In high-altitude and ground-level samples of the studied atmospheric aerosols, bacteria of the cereus group belonging to *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* species were found in amounts ranging from 0.01 to 6.5% of the total number of cultured microorganisms isolated under experimental conditions. The presence of aggression enzymes such as phospholipases, hemolysins, proteases, and nucleolytic enzymes typical of representatives of these taxa, was found. We isolated Bc and Bt strains with high levels of secretion of enzymes and metabolites that possess antibiotic activity; these strains are promising as producers. The *Bacillus thuringiensis* Cb-527 strain (with

a pronounced secretion of the RNase complex) can be used for the development of anti-RNA-containing virus drugs. The isolated *Bc* and *Bt* strains demonstrated multiple antibiotic resistance, which confirms literature data on the increasing prevalence of polyresistance among the identified natural microbial isolates.

The paper contains 4 Figures, 4 Tables, and 41 References.

Key words: *Bacillus cereus*; *Bacillus thuringiensis*; atmospheric bioaerosols; spore-forming microorganisms; enzymatic, antibiotic activity

Funding: The work was performed as a part of the state order of Rospotrebnadzor (Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Smets W, Moretti S, Denys S, Lebeer S. Airborne bacteria in the atmosphere: Presence, purpose, and potential. *Atmos. Environ.* 2016;139:214-221. doi: [10.1016/j.atmosenv.2016.05.038](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.038)
2. Wei K, Zheng Y, Li J, Shen F, Zou Z, Fan H, Li X, Wu C, Yao M. Microbial aerosol characteristics in highly polluted and near-pristine environments featuring different climatic conditions. *Science Bulletin.* 2015;60:1439-1447. doi: [10.1007/s11434-015-0868-y](https://doi.org/10.1007/s11434-015-0868-y)
3. Soleimani Z, Goudarzi G, Sorooshian A, Marzouni MB, Maleki H. Impact of Middle Eastern dust storms on indoor and outdoor composition of bioaerosol. *Atmospheric Environment.* 2016;138:135-143. doi: [10.1016/j.atmosenv.2016.05.023](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.023)
4. Akila M, Priyamvada H, Ravikrishna R, Gunthe SS. Characterization of bacterial diversity and ice-nucleating ability during different monsoon seasons over a southern tropical Indian region. *Atmospheric Environment.* 2018;191:387-394. doi: [10.1016/j.atmosenv.2018.08.026](https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.08.026)
5. Madsen AM, Zervas A, Tendal K, Nielsen JL. Microbial diversity in bioaerosol samples causing ODS compared to reference bioaerosol samples as measured using Illumina sequencing and MALDI-TOF. *Environmental Research.* 2015;140:255-267. doi: [10.1016/j.envres.2015.03.027](https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.03.027)
6. Kobayashi F, Maki T, Kakikawa M, Yamada M, Puspitasari F, Iwasaka Y. Bioprocess of Kosa bioaerosols: Effect of ultraviolet radiation on airborne bacteria within Kosa (Asian dust). *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2015;119(5):570-579. doi: [10.1016/j.jbiosc.2014.10.015](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.10.015)
7. Griffin DW. Terrestrial microorganisms at an altitude of 20,000 m in Earth's atmosphere. *Aerobiologia.* 2000;20(2):135-140. doi: [10.1023/B:AERO.0000032948.84077.12](https://doi.org/10.1023/B:AERO.0000032948.84077.12)
8. Griffin DW. Atmospheric movement of microorganisms in clouds of desert dust and implications for human health. *Clinical Microbiology Reviews.* 2007;20(3):459-477. doi: [10.1128/CMR.00039-06](https://doi.org/10.1128/CMR.00039-06)
9. Yang Y, Itahashi S, Yokobori SI, Yamagishi A. UV-resistant bacteria isolated from upper troposphere and lower stratosphere. *Biological Science in Space.* 2008;22:18-25. doi: [10.2187/bss.22.18](https://doi.org/10.2187/bss.22.18)
10. Yoo K, Han I, Ko KS., Lee TK., Yoo H, Khan MI, Tiedje JM, Park J. *Bacillus*-dominant airborne bacterial communities identified during Asian dust events. *Microbial Ecology.* 2019;78(3):677-687. doi: [10.1007/s00248-019-01348-0](https://doi.org/10.1007/s00248-019-01348-0)
11. Liu Y, Du J, Lai Q, Zeng R, Ye D, Xu J, Shao Z. Proposal of nine novel species of the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2017;67(8):2499-2508. doi: [10.1099/ijssem.0.001821](https://doi.org/10.1099/ijssem.0.001821)
12. Buehler AJ, Martin NH, Boor KJ, Wiedmann M. Psychrotolerant spore-former growth characterization for the development of a dairy spoilage predictive model. *Journal of Dairy Science.* 2018;101(8):6964-6981. doi: [10.3168/jds.2018-14501](https://doi.org/10.3168/jds.2018-14501)

13. *Patogeny nasekomykh: strukturnye i funktsional'nye aspekty* [Insect Pathogens: structural and functional aspects]. Glupov VV, editor. Moscow: Kruglyy god Publ.; 2001. 736 p. In Russian
14. Ramarao N, Lereclus D, Sorokin A. The *Bacillus cereus* group. In: *Molecular Medical Microbiology*. Vol. 2. Chap. 59. Tang Y-W, Sussman M, Liu D, Poxton I, Schwartzman J, editors. New York: Elsevier Publ.; 2015. pp. 1041-1078.
15. Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010;23(2):382-398. doi: [10.1128/CMR.00073-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09)
16. Williams LD, Burdock GA, Jiménez G, Castillo M. Literature review on the safety of Toyocerin, a non-toxicogenic and non-pathogenic *Bacillus cereus* var. *toyoi* preparation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009;55(2):236-246. doi: [10.1016/j.yrtph.2009.07.009](https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2009.07.009)
17. Pokhilenko VD, Perelygin VV. Probiotiki na osnove sporoobrazuyushchikh bakteriy i ikh bezopasnost' [Probiotics on the basis of spore-forming bacteria and their safety]. *Khimicheskaya i biologicheskaya bezopasnost'*. 2007;2-3:20-41. In Russian
18. Mefoyd KM, Osipova IG, Vasilyeva EA. The results of the comparative study of new vet probiotics irilis and paciflor. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Meditsina = Rudn Journal of Medicine*. 2006;2:27-31. In Russian
19. Yeo IC, Lee NK, Cha C-J, Hahm YT. Narrow antagonistic activity of antimicrobial peptide from *Bacillus subtilis* SCK-2 against *Bacillus cereus*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2011;112(4):338-344. doi: [10.1016/j.jbiosc.2011.06.011](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2011.06.011)
20. Safatov AS, Andreeva IS, Buryak GA, Marchenko VV, Ol'kin SE, Reznikova IK, Repin VE, Sergeev AN, Belan BD, Panchenko MV. Tropospheric bioaerosols of Southwestern Siberia: Their concentrations and variability, distributions and long-term dynamics. In: *Nucleation and Atmospheric Aerosols*. O'Dowd CD, Wagner PE, editors. Dordrecht: Springer; 2007. pp. 741-745. doi: [10.1007/978-1-4020-6475-3_146](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6475-3_146)
21. Andreeva IS, Safatov AS, Puchkova LI, Emel'yanova EK, Buryak GA, Ol'kin SE, Reznikova IK, Okhlopko OV. Kul'tiviruemye mikroorganizmy v vysotnykh probakh aerolezy vozdukh severa Sibiri v khode samoletnogo zondirovaniya atmosfery [Culturable microorganisms in high-altitude atmospheric aerosol samples collected above northern Siberia by aircraft sounding]. *Vestnik Nizhnevartovskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2019;2:3-11. doi: [10.36906/2311-4444/19-2/01](https://doi.org/10.36906/2311-4444/19-2/01) In Russian
22. Andreeva IS, Safatov AS, Morozova VV, Tikunova NV, Emelyanova EK, Solovyanova NA, Babkin IV, Buryak GA, Puchkova LI. Saprophytic and pathogenic yeasts in atmospheric aerosols of Southwestern Siberia. *Atmospheric and Oceanic Optics*. 2020;33(5):505-511. doi: [10.1134/S1024856020050024](https://doi.org/10.1134/S1024856020050024)
23. Gusareva ES, Gaultier NPE, Premkrishnan BNV, Kee C, Lim SBY, Heinle CE, Purbojati RW, Nee AP, Lohar SR, Yanqing K, Kharkov VN, Drautz-Moses DI, Stepanov VA, Schuster SC. Taxonomic composition and seasonal dynamics of the air microbiome in West Siberia. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21515. doi: [10.1038/s41598-020-78604-8](https://doi.org/10.1038/s41598-020-78604-8)
24. *Metody obshchey bakteriologii. T. 3.* [General bacteriology methods. Vol. 3]. Pod red. Gerkhard F, Myurrey R, Kostilou R, Nester Yu, Vud V, Krig N, Filips G, editors. Moscow: Mir Publ.; 1984. 264 p. In Russian
25. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 3. The Firmicutes. Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA and Whitman WB, editors. New York: Springer-Verlag Publ.; 2009. 1450 p. doi: [10.1007/978-0-387-68489-5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-68489-5)
26. Maniatis T, Fritsch E, Sambrook J. *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. Translated from English by Baev AA and Skryabin KG. Moscow: Mir Publ.; 1984. 480 p. In Russian
27. Yasuda T, Nadano D, Tenjo E, Takeshita H, Kishi K. The zymogram method for detection of ribonucleases after isoelectric focusing: analysis of multiple forms of human, bovine, and microbial enzymes. *Anal. Biochem*. 1992;206(1):172-177. doi: [10.1016/S0003-2697\(05\)80029-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(05)80029-6)

28. Singh V, Haque S, Singh H, Verma J, Vibha K, Singh R, Jawed A, Tripathi CRM. Isolation, screening, and identification of novel isolates of *Actinomyces* from India for antimicrobial applications. *Front. Microbiol.* 2016;7:1-9. doi: [10.3389/fmicb.2016.01921](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01921)
29. Wang Y, Qian P-Y. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One.* 2009;4(10):e7401. doi: [10.1371/journal.pone.0007401](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007401)
30. Ashmarin IP, Vorob'ev AA. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh [Statistical methods in microbiological research]. Leningrad: Medgiz Publ.; 1962. 180 p. In Russian
31. *Rukovodstvo po meditsinskoj mikrobiologii. Chastnaya meditsinskaya mikrobiologiya i etiologicheskaya diagnostika infektsiy. Kniga II* [Guide to Medical Microbiology. Private medical microbiology and etiological diagnosis of infections. Book II]. Labinskaya AS, Kostyukova NN, Ivanova SM, editors. Moscow: Izdatel'stvo BINOM; 2010. 1152 p. in Russian
32. Bottone EJ. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Review.* 2010;23(2):382-398. doi: [10.1128/CMR.00073-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00073-09)
33. Strachunskiy LS, Kozlov SN. Sovremennaya antimikrobnaya khimioterapiya. Rukovodstvo dlya vrachej [Modern antimicrobial chemotherapy. A guide for doctors]. Moskow: Borges Publ.; 2002. 432 p. In Russian
34. Yibar A, Çetinkaya F, Soyutemiz E, Yaman G. Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi.* 2017;23(4):635-642. doi: [10.9775/kvfd.2017.17480](https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.17480)
35. Kumar SN, Mohandas C, Nambisan B. Purification of an antifungal compound, cyclo(l-Pro-d-Leu) for cereals produced by *Bacillus cereus* subsp. *thuringiensis* associated with entomopathogenic nematode. *Microbiological Research.* 2013;168(5):278-288. doi: [10.1016/j.micres.2012.12.003](https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.003)
36. Zheng D, Zeng Z, Xue B, Deng Y, Sun M, Tang Y-J, Ruan L. *Bacillus thuringiensis* produces the lipopeptide thumolycin to antagonize microbes and nematodes. *Microbiological Research.* 2018;215:22-28. doi: [10.1016/j.micres.2018.06.004](https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.06.004)
37. Nakamura N, Nakano K, Sugiura N, Matsumura M. A novel cyanobacteriolytic bacterium, *Bacillus cereus*, isolated from a Eutrophic Lake. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 2003;95(2):179-184. doi: [10.1016/s1389-1723\(03\)80125-1](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(03)80125-1)
38. Silo-Suh LA, Lethbridge BJ, Raffel SJ, He H, Clardy J, Handelsman JO. Biological activities of two fungistatic antibiotics produced by *Bacillus cereus* UW85. *Applied and Environmental Microbiology.* 1994;60(6):2023-2030. doi: [0.1128/aem.60.6.2023-2030.1994](https://doi.org/10.1128/aem.60.6.2023-2030.1994)
39. Vilas-Bôas GT, Santos CA. Conjugation in *Bacillus thuringiensis*: Insights into the Plasmids Exchange Process. In: *Bacillus thuringiensis Biotechnology*. Sansinenea E, editor. Dordrecht: Springer Publ.; 2012; pp. 159-174. doi: [10.1007/978-94-007-3021-2_8](https://doi.org/10.1007/978-94-007-3021-2_8)
40. Andreeva IS, Zakabunin AS. Issledovanie vnekletochnykh nukleoticheskikh fermentov shtammov *Bacillus thuringiensis* metodom zimografii [Study of extracellular nucleotide enzymes of *Bacillus thuringiensis* strains by zymography]. *Colloquium-Journal.* 2017;2(2):7-14. In Russian
41. Shah Mahmud R, Ilinskaya ON. Antiviral activity of binase against pandemic influenza A (H1N1) virus. *Acta Naturae.* 2013;5(4):44-51. doi: [10.32607/20758251-2013-5-4-44-51](https://doi.org/10.32607/20758251-2013-5-4-44-51)

Received 04 April, 2021; Revised 17 August, 2021;

Accepted 25 November, 2021; Published 29 December, 2021.

Author info:

Andreeva Irina S., Cand. Sci (Biol.), Assoc. Professor, Leading Researcher, Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: andreeva_is@vector.nsc.ru

Safatov Alexander S., Dr. Sci. (Techn.), Head of the Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: safatov@vector.nsc.ru

Puchkova Larisa I., Cand. Sci (Biol.), Leading Researcher, Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: puchkova_li@vector.nsc.ru

Emelyanova Elena K., Cand. Sci (Biol.), Senior Researcher, Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation; Assoc. Professor of Department of Hygiene and Ecology, FSBEI HE Novosibirsk State Medical University, 52 Krasny pr., Novosibirsk 630091, Russian Federation.

E-mail: emelen1@yandex.ru

Solovyanova Nadezhda A., Researcher, Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: solovyanova_na@vector.nsc.ru

Buryak Galina A., Researcher, Department of Biophysics and Environmental Research, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: buryak@vector.nsc.ru

Ternovoi Vladimir A., Cand. Sci (Biol.), Head of Laboratory, Department of Molecular Virology, FBRI State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector" Rospotrebnadzor, Koltsovo, Novosibirsk region 630559, Russian Federation.

E-mail: tern@vector.nsc.ru