

**(ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ)  
СПОСІБ ПРИШВИДШЕННЯ ГЕРМІНАЦІЇ ТА  
ПРИСКОРЕННЯ ЗРОСТАННЯ ПРОБІОТИЧНИХ  
СПОРОВИХ БАКТЕРІЙ**

**Оксана Книш, Артур Мартинов,  
Надія Скляр**

**ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.  
Мечникова Національної академії медичних наук  
України»**

Затверджено Вченою Радою ДУ «ІМІ НАМН», Протокол  
№ 6 від 30.05.2024

Рецензент : Кисличенко В.С., доктор фарм. наук,  
професор, завідувачка кафедри фармакогнозії та  
нутриціології Національного фармацевтичного  
університету України

Пропонується для використання в науково-дослідній та практичній роботі профільних установ МОЗ та НАМН України (НДІ, кафедр медичних та фармацевтичних ВНЗ, лабораторій, клінічних відділень, відділів біотехнології біотехнологічних виробництв) спосіб пришвидшення гермінації та прискорення росту вегетативних клітин спорових пробіотичних бактерій *Heyndrickxia coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Alkalihalobacillus clausii*, які проявили широкий спектр антагоністичної дії щодо багатьох мікроорганізмів та вірусів, що викликають кишкові розлади у людини. Додавання до поживних середовищ таурину та томатної пасти спонукають спори вказаних мікроорганізмів значно швидше прокидатися, а вегетативні клітини більш активно ділитися. Додані компоненти середовища не є токсичними та є продуктами харчування.

Високі темпи поширення антибіотикорезистентності спонукають вчених до пошуку нових антибактеріальних засобів. Бактеріоцини - природні антибактеріальні речовини, визнані найбільш перспективними у боротьбі з мультирезистентними бактеріями. Спороутворюючі пробіотичні штами, що здатні продукувати бактеріоцини, є найбільш перспективним джерелом таких речовин. Це пов'язано з особливостями реакції пробіотичних бацил на стресові фактори, наприклад, зміну температури чи додавання нових стимуляторів. За впливу зміни умов культивування (температури) або складу середовища, додавання неметаболітних компонентів) бактерії секретують нові класи бактеріоцинів. В залежності від наявності компонентів-стимуляторів гермінації синтезуються різні класи бактеріоцинів. На структуру, широту антимікробної дії таких бактеріоцинів впливає цілий ряд чинників, що присутні під час стресового впливу. Наприклад, одночасна наявність фрагментів або живих хвороботворних бактерій поряд з пробіотичним штамом *H. coagulans* під час утворення спор за впливу субоптимальної температури

стимулює *H. coagulans* до синтезу високоселективного бактеріоцину проти стафілококу. При цьому, такий бактеріоцин є нетоксичним та специфічним до багатьох резистентних штамів стафілококів. Незважаючи на те, що всі три компоненти запропонованої нами композиції визнано FDA безпечними (клас GRAS) та їх можна використовувати навіть у продуктах харчування, існує декілька застережень стосовно можливої антагоністичної взаємодії пробіотичних бацил, швидкості гермінації та швидкості напрацювання біомаси в промисловому виробництві. Всі три бактерії є сапрофітами (організми, які отримують необхідні для життєдіяльності речовини, руйнуючи залишки мертвих рослин чи відмерлі частини рослин, абсорбуючи розчинні органічні сполуки).

У результаті проведених нами досліджень було встановлено, що оптимальним середовищем культивування вищезазначених пробіотичних бацил поживний агар, до складу якого додано 0,5 % таурину та 1,0 % томатної пасти. Вирощування вказаних мікроорганізмів у рідких середовищах не супроводжувалося помітним зростанням бактеріоцидної активності безклітинного супернатанту. Культивування на твердому середовищі з додаванням таурину та томатної пасти виявилось найбільш оптимальним рішенням для створення біомаси, що містить як вегетативні клітини, так і велику кількість бактеріоцинів і спор. В результаті досліджень було показано, що при спільному культивуванні *Heyndrickxia coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Alkalihalobacillus clausii* на твердих поживних середовищах (поживний агар та агар Мюллера-Хінтона) в присутності таурину та томатної пасти спостерігається виділення бактеріоцинів, активних щодо *P.aeruginosa*, *S. aureus*, *P.vulgaris*, тоді як окреме культивування кожного пробіотичного штаму або спільне їх культивування в рідкому поживному середовищі (поживному бульйоні) не призводить до напрацювання бактеріоцинів з прямим антагонізмом.

Таким чином, спільне культивування *Heyndrickxia coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Alkalihalobacillus clausii* на поживному агарі з 0,5 % таурину та 1,0 % томатної пасти (у перерахунку на готове середовище) призводить до пришвидшення вдвічі (з 48 годин до 24 годин) появи перших колоній (гермінацію зі спор) та збільшує розміри та кількість колоній при культивуванні. Окрім того, отримана біомаса володіє прямими антагоністичними властивостями щодо контрольних мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, що пояснюється наявністю бактеріоцинів (монокультури пробіотичних бацил не мають таких властивостей).

**(Information sheet) A method of accelerating germination and growth of probiotic spore bacteria**

**Oksana Knysh, Artur Martynov, Nadiia Skliar**  
Co-cultivation of *Heyndrickxia coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Alkalihalobacillus clausii* on nutrient agar with 0.5 % taurine and 1.0 % tomato paste (in terms of the finished medium) leads to a twofold acceleration (from 48

hours to 24 hours) of the appearance of the first colonies (spore germination) and increases the size and number of colonies during cultivation. In addition, the obtained biomass has direct antagonistic properties against the control microorganisms: *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, which is explained by the presence of bacteriocins (monocultures of probiotic bacilli do not have such properties).

**Keywords:** *Heyndrickxia coagulans*, *Bacillus subtilis*, *Alkalihalobacillus clausii*, co-cultivation, solid media, taurine, tomato extract, bacteriocins, antagonism.