

# Чотири «КИТИ» СТІЙКОСТІ

## Спороформна природа штамів бактерій зберігає активність пробіотика навіть за несприятливих умов

АРТУР ІЛЛЯШЕНКО, канд. біол. наук  
технічний спеціаліст компанії Bioproton Europe Oy

Частина пробіотиків у структурі ринку кормових добавок в Україні сильно поступається ферментам, підкислювачам й адсорбентам. Проте у світі картина дещо інша. З досліджень, опублікованих у Mordor Intelligence, однієї з елітних світових компаній з огляду світових ринків, уже у 2015 році частка пробіотиків становила 9,9% ринку, водночас на ферменти й адсорбенти припадало 3,0 та 5,2% відповідно.

За прогнозами аналітиків з Data Bridge Market Research, загальний обсяг виробництва пробіотиків у світі найближчими роками буде невпинно зростати, а їхня вартість 2027 року сягне 91,3 млн доларів.

### Новаторські ідеї

Компанія Bioproton 2014 року завершила багаторічну роботу над створен-

ням принципово нового пробіотику на основі селективних штамів бактерій роду *Bacillus*. Бацилярні пробіотики не були такими поширеними, як добавки на основі мікроорганізмів родини *Lactobacillus* і *Bifidobacterium*. Але вже тоді було відомо, що деякі представники широкої групи спороутворювальних бактерій – *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Clostridium*, *Sporolactobacillus* своєю присутністю здатні запобігати кишковим розладам, навіть краще за традиційні препарати на основі лакто- та біфідобактерій.

На ринку вже були представлені пробіотики на основі *B. subtilis* і *B. licheniformis* і навіть їх поєднання. Але науковці вирішили піти далі, додавши два штами виду *B. subtilis* та *B. Licheniformis*, а також два штами *B. amyloliquefaciens*, які на той час практично не використовували в кормових добавках, до складу нового пробіотика. Таким чином, чотири різні штами у складі одного продукту Натупро діють синергічно, що посилює ефективність роботи, якщо порівняти з одно- або двоштамовими пробіотиками та значно розширює функціональність добавки.

### Стійкість і життєздатність

Новий продукт містить спори бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens* (штами 390 і 700). Різноманіття використаних мікроорганізмів підвищує шанси їх виживання в кишківнику та результат застосування загалом. Пробіотик стійкий до зовнішніх чинників, а бактерії лишаються життєздатними у несприят-

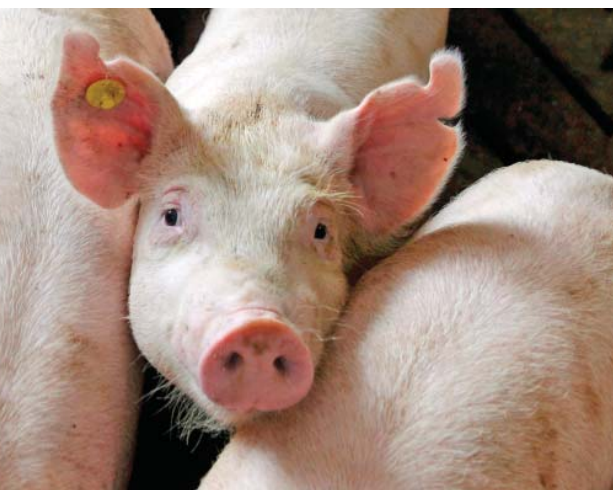
ливих умовах – за різких температурних коливань, відсутності вологи та повітря, дії різних хімічних сполук, які зазвичай згубно впливають на живі організми. Відповідно препарат на основі цих бактерій можна зберігати 24 місяці за температури –15...+25 °С.

Спороформна природа штамів робить новий пробіотик надзвичайно високоефективним і стабільним продуктом, на відміну від пробіотиків на основі живих бактерій, які чутливі до коливань температури навколишнього середовища, умов харчування та не виживають у процесі грануляції кормів. Природно стабільний за +140 °С протягом 3–4 с і може бути використаний в екструдерах. Після дії температури до +130 °С впродовж 1 хв він повністю зберігає свою стабільність, а через 3 хв кількість спор усе ще становить близько 50%.

Важливими умовами для роботи пробіотиків у кишківнику є їхня стійкість до впливу соляної кислоти в шлунку та жовчі у дванадцятипалій кишці. Спори бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens* виживають після проходження шлунково-кишкового тракту й розвиваються у кишковому тракті. Нейтральне середовище кишківника ідеально придатне для них, а тривалість перебування бактерій у вегетативному стані може становити 7–24 доби. Оптимальним є рН шлунково-кишкового тракту в клубовій і порожній кишці, приблизно 7,4. Ураховуючи всі ці особливості, новий пробіотик рекомендується додавати безперервно.

Після виходу спор у вегетативний стан Натупро починає працювати проти грам-позитивних і грам-негативних патогенів. Адгезія до органу-мішені є важливою якістю ефективного пробіотика.

Потрапляючи в кишківник, бактерії *B. subtilis*, *B. licheniformis* та *B. amyloliquefaciens* колонізують його епітелій, прикріплюються до поверхні мікроросинок, утворюючи біоплівку на їх поверхні, та частково лишаються в просвіті кишки, де вони живуть і розмножуються. Різні умови навколишнього середовища спричиняють утворення різних типів біоплівки. У процесі їх формування субпопуляції клітин диференціюються, утворюючи позаклітинний матрикс, який забезпечує з'єднання бактерій між собою і з клітинами епітелію кишківника.



## Протимікробна дія

Біоплівка не тільки допомагає захистити колонії бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* та *B. amyloliquefaciens* від патогенних мікроорганізмів, але й пригнічує її власне руйнування перистальтикою та іншими впливами. Вона захищає як від грам-позитивних, так і від грам-негативних бактерій. Грам-негативні бактерії мають тенденцію знижувати рН кишківника, створюючи сприятливіше середовище для себе, вони розмножуються за нижчого рН. Водночас *Bacillus* повинні стабілізувати рН до сприятливого для корисних бактерій. У поросят після застосування з кормом пробіотику з бактерій роду *Bacillus* на тлі збільшення в фекаліях кількості аеробних і анаеробних споротворювальних бактерій знизився вміст лактококів, ентерококів і коліформних мікроорганізмів. У фекаліях свиней, яким додавали штаб *B. subtilis* МА 139, спостерігали на тлі істотного збільшення кількості лактобацил зниження кишкової палички.

Бактерії *B. subtilis*, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens* проявляють різноманітну антимікробну активність, пов'язану насамперед із продукуванням речовин з антибактеріальною активністю — лантібіотиків, серед яких поліміксини, бацитрацин, тиротрициновий комплекс, граміцидин С, субтілін, едеїн, мікробацилін і ін. Штаб *B. subtilis* секретує дві бактерицидні речовини, що відрізняються стійкістю до нагрівання, резистентністю до протеази та *in vitro* активністю проти *Helicobacter pylori*, а також бактеріоцидини класу 2, які являють собою пептиди з молекулярною масою близько 3,5 кДа, активні проти широкого спектра мікроорганізмів, включно з *Campylobacter jejuni*.

## Імуномодуляційні властивості

В організмі реципієнта пробіотик на основі бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* та *B. amyloliquefaciens* бере участь у формуванні імунної відповіді. Дослідження показали, що пероральне введення спор *B. subtilis* викликає підвищення активності секретованих клітинами IgA. Потрапивши в організм, бактерії стимулюють секрецію IgG, перебуваючи навіть в стані спор. Генеруючи гуморальну відповідь, антигени спор можуть взаємодіяти з лімфоїдною тканиною кишківника. Спори *B. subtilis* входять у бляшки Пейєра

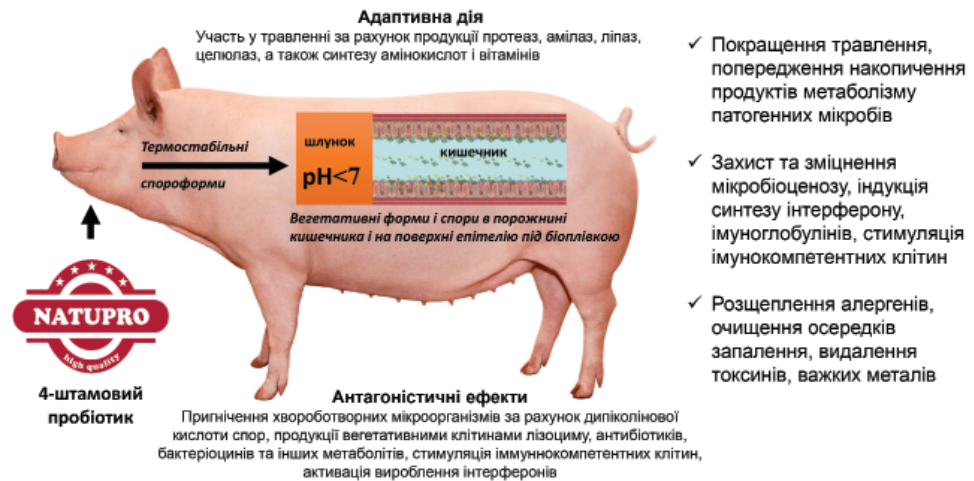


Схема дії Натупро компанії Біопротон

і лімфовузли брижі. Наявність в складі Натупро *B. subtilis* і *B. licheniformis* може сприяти підвищенню рівня серологічної відповіді на сальмонелу. Вегетативні клітини і спори, проходячи в нижній відділі кишківника, стимулюють імуннокомпетентні клітини кишківника і макрофаги, які відповідають підвищенням продукції інтерферонів та цитокінів.

## Вплив на мікробіоту

Діяти на мікробіоту кишківника можуть не тільки вегетативні форми *Bacillus*, а й спори. Завдяки протеазній активності спори бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens* активізують процеси травлення, можуть виробляти вітамін K<sub>2</sub>, каталазу і субтілізин, які знижують алергенність кормів і стимулюють ріст *Lactobacillus*. Присутня в спорах дипіколінова кислота, пригнічує ріст більшості лактобацил і ентеробактерій, не впливаючи на ентерококи.

Водночас початком їх пробіотичної дії слід вважати контакт добавки з епітеліальними клітинами шлунково-кишкового тракту організму-реципієнта з наступною дифузиею на слизові оболонки протеолітичних ферментів, каталази і дипіколінової кислоти. Останні активують травні і обмінні процеси, а також інгібують деякі мікроорганізми. Далі протягом двох годин близько 90% спор переходять у вегетативні форми з інтенсивною продукцією фізіологічно активних речовин, які впливають на процеси травлення і патогенні мікроорганізми.

На підставі даних, отриманих в дослідженнях на курчатах, яким впродовж 28

днів згодовували *B. subtilis* natto, можна говорити про те, що Натупро стимулює ріст мікробіотики і знижує концентрацію аміаку в крові тварин. Посилення фізіологічної активності, зумовлене наявністю бактерій *Bacillus spp.*, може проявлятися і в інактивації хімічного мутагену — 4-нітрохінолін-1-оксиду (4NQO).

Наявність спор бактерій *B. amyloliquefaciens*, які практично не зустрічаються в пробіотиках інших продуктів, сприяє підвищенню швидкості приросту живої маси тварин і ефективного використання корму. Бактерії *B. amyloliquefaciens* належать до одного сімейства штабів, але мають різний геномний характер. Наприклад, *B. amyloliquefaciens* 700 є вибірково мутованим штабом з покращеними властивостями, зокрема з кращою секрецією ферментів. Обидва штаби виробляють целюлазу, α-амілазу і протеазу, які сприяють розщепленню поживних речовин, необхідних для росту корисної мікрофлори кишківника.

Таким чином, пробіотична дія бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis* і *B. amyloliquefaciens* на організм виникає внаслідок поєднання їх адаптивної дії — участі у травленні в результаті продукції протеаз, амілаз, ліпаз, целюлаз, а також синтезу амінокислот і вітамінів. Водночас антагоністичні властивості проявляються у дії дипіколінової кислоти спор, продукції вегетативними клітинами антибіотиків, ферментів і стимуляції імуннокомпетентних клітин, активації продукування інтерферонів.