

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ІВАНОВ МИКИТА СЕРГІЙОВИЧ

УДК 579.841.088:661.185

ДИСЕРТАЦІЯ
ВПЛИВ БІОЛОГІЧНИХ ІНДУКТОРІВ НА АНТИМІКРОБНУ ТА
АНТИАДГЕЗИВНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН
ACINETOBACTER CALCOACETICUS IMB B-7241

Спеціальність 162 – Біотехнології та біоінженерія

Галузь знань 16 – Хімічна та біоінженерія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 Іванов М.С.

Науковий керівник: Пирог Тетяна Павлівна

доктор біологічних наук, професор



Київ – 2025

АНОТАЦІЯ

Іванов М.С. «Вплив біологічних індукторів на антимікробну та антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241» - кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття освітньо-наукового ступеня доктор філософії за спеціальністю 162 Біотехнологія та біоінженерія. - Національний університет харчових технологій Міністерства освіти та науки України, Київ, 2025.

Серед перспективних альтернатив традиційним антибіотикам - мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР), які є поверхнево-активними вторинними метаболітами, що синтезуються бактеріями, дріжджами та мікроміцетами. Ці сполуки не тільки зменшують поверхневий/міжфазний натяг, але й проявляють широкий спектр біологічної активності щодо патогенних мікроорганізмів. На відміну від традиційних антибіотиків, які націлені на конкретні клітинні процеси, мікробні ПАР можуть руйнувати мембрани мікробних клітин, впливати на здатність клітин до прікріплення до поверхонь, запобігаючи початковому етапу адгезії, що призводить до утворення біоплівки. Більше того, було показано, що поверхнево-активні речовини, такі як рамноліпіди та ліпопептиди, диспергують сформовані біоплівки, ефективно руйнуючи захисний матрикс бактерій. У порівняльних дослідженнях ці мікробні поверхнево-активні речовини значно перевершили звичайні антибіотики у зменшенні біомаси біоплівки. Ця подвійна функціональність - знищення планктонних культур мікроорганізмів та запобігання або руйнування біоплівки - позиціонує поверхнево-активні речовини як привабливих кандидатів у боротьбі з медикаментозно-резистентними інфекціями, пов'язаними з біоплівками.

Важливо розуміти, що мікробні поверхнево-активні речовини зазвичай синтезуються як складні суміші споріднених молекул, а не як окремі сполуки. Точний склад і властивості цих метаболітів можуть суттєво відрізнятися залежно від штамму-продуцента та умов культивування. Через таку мінливість, оптимізація умов ферментації є ключовим аспектом розробки ПАР для практичного використання. Це також означає, що використання біологічних індукторів (один із методів спільного культивування мікроорганізмів) можуть бути використані для сприяння виробництву

похідних з підвищеною антимікробною та антиадгезивною активністю. Таким чином, мікробні поверхнево-активні речовини є універсальними вторинними метаболітами, ефективність яких пов'язана не тільки з притаманними їм біологічно активними властивостями, але й з екологічними факторами (можливість використання промислових відходів у якості субстратів).

Дисертаційна робота присвячена дослідженню регуляції біологічної активності (антимікробна, антиадгезивна та роль у руйнуванні бактеріальних та дріжджових біоплівки) поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині різного ступення очищення (очищений та відходи виробництва біодизеля) разом із біологічними індукторами у вигляді прокаріотичних та еукаріотичних мікроорганізмів.

Встановлено, що поверхнево-активні речовини *A. calcoaceticus* IMB B-7241 незалежно від типу субстрату (очищений гліцерин, відходи виробництва біодизелю) та фізіологічного стану індуктора *Bacillus subtilis* БТ-2, *Enterobacter cloacae* С-8, чи *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 (живі клітини, інактивовані клітини та відповідний супернатант) виявляли вищу біологічну активність (антимікробна, антиадгезивна, знатність до руйнування біоплівки) порівняно з поверхнево-активними речовинами, синтезованими внесення без індуктора.

Поверхнево-активні речовини, синтезовані *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на середовищі з гліцерином різного ступення очищення за внесення прокаріотичного індуктора *B. subtilis* БТ-2, у будь-якому фізіологічному стані мали значення мінімальних інгібуючих концентрацій щодо *B. subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2 у діапазоні 0,23-18,4 мкг/мл, що значно нижче значення МІК без використання індукторів – 2,8-19,6 мкг/мл. При внесенні грамнегативного індуктора *Enterobacter cloacae* С-8 МІК поверхнево-активних речовин, синтезованих за їх наявності щодо *B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *E. coli* ІЕМ-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2 вдалося зменшити у 3-28 рази. Використання дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 як індуктора у середовищі культивування ПАР штаму IMB B-7241 дозволило знизити мінімальні інгібуючі концентрації щодо

E. cloacae C-8, *S. aureus* БМС-1, *B. subtilis* БТ-2 та *Proteus vulgaris* ПА-12 з 16-56 до 0,85-19,2 мкг/мл.

Поверхнево-активні речовини, синтезовані *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на середовищі з гліцерином різного ступення очищення за внесення прокаріотичних (*B. subtilis* БТ-2, *E. cloacae* C-8) та еукаріотичних (*S. cerevisiae* БТМ-1) типів індуктора дало змогу знизити МІК щодо дріжджів *Candida albicans* Д-6 та *Candida tropicalis* РЕ-2 до 1,87-18,4 мкг/мл, 1-20 мкг/мл, 1,1 – 19,2 мкг/мл, або в 1,1 – 6 разів, 2-14 разів, 2,5 – 18,5 разів відповідно, порівняно з контролем.

Результати антимікробної активності корелювали з активністю одного із ключових ферментів біосинтезу аміноліпідів в клітинах продуцента *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази: активність зростала у 1,5–2 рази порівняно з варіантом культивування штаму ІМВ В-7241 без індукторів, але тільки у середовищі, яке містило очищений гліцерин.

У разі використання ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на очищеному гліцерині, чи промислових відходах за внесення живих, інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 чи супернатанта ступінь адгезії *P. vulgaris* ПА-12, *B. subtilis* БТ-2, *E. cloacae* C-8, *S. aureus* БМС-1 та *C. tropicalis* РЕ-2, *C. albicans* Д-6 до сталі та лінолеуму, був 1,1-5,9 рази меншим, ніж при використанні аналогічних препаратів ПАР, синтезованих без внесення індукторів. За використання індуктора *E. cloacae* C-8 при культивуванні *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, ступінь адгезії бактеріальних та дріжджових культур до сталі, кахелю та лінолеуму був у 1,1-1,4 рази нижчим, порівняно з показниками, встановленими для ПАР, одержаних у середовищі без індуктора. За обробки ПАР, синтезованих штамом ІМВ В-7241 з додаванням дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1 у різному фізіологічному стані адгезія *P. vulgaris* ПА-12, *B. subtilis* БТ-2 та *C. albicans* Д-6 до сталі та кахелю була в 1,05-1,7 рази нижчою, порівняно із дією ПАР, одержаних без індуктора. Адгезія *B. subtilis* БТ-2 та *P. vulgaris* ПА-12 до лінолеуму за аналогічних умов була у 1,2-1,6 рази нижчою за обробки ПАР без внесення індукторів.

Ефективність руйнування бактеріальних *E. coli* ІЕМ-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2, *S. aureus* БМС-1, *B. subtilis* БТ-2, *P. vulgaris* ПА-12 та дріжджових *C. tropicalis* РЕ-2 та

C. albicans Д-6 біоплівки за обробки їх ПАР, синтезованими штамом ІМВ В-7241 на гліцерині різної якості (очищений, чи технічний) за наявності у середовищі продуцента індукторів *E. cloacae* С-8, *B. subtilis* БТ-2 та *S. cerevisiae* БТМ-1 різного фізіологічного стану, була 1,05-2,5 разів вищою у порівнянні з встановленою для контрольних ПАР, одераних без індукторів.

Отже, внесення біологічних індукторів у середовище культивування продуцента ПАР дає змогу отримати не тільки високоефективні мікробні препарати з високої антимікробної, антиадгезивної активності та здатністю до ефективного руйнування біоплівок тест-культур широкого спектра, а й допомагає вирішити екологічну проблему утилізації токсичних промислових відходів (відходи виробництва біодизеля).

Ключові слова: штам-продуцент, мікробіологічний синтез, культивування, поверхнево-активні речовини, антимікробна активність, резистентність до антибіотиків, біоплівки, індуктор, бактерії, дріжджі, мікробний синтез

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Пирог, Т.П., Іванов, М.С., & Ярова, Г.А. (2021). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*, 27(4), 43-52. doi: 10.24263/2225-2924-2021-27-4-6

<https://dspace.nuft.edu.ua/items/eb7f7695-13d9-43f1-878b-fca97c8462d9>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антимікробної активності мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 975 від 11.07.2019); міжнародна індексація: *Index Copernicus, Google Scholar, EBSCOhost*.

2. Пирог, Т.П., & Іванов, М.С. (2022). Вплив біологічних індукторів на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*, 28(4), 36-46. doi: 10.24263/2225-2924-2022-28-4-5

<https://dspace.nuft.edu.ua/items/c5652180-6a74-4ac0-af36-7fd806aff5cf>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної активності мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 975 від 11.07.2019); міжнародна індексація: *Index Copernicus, Google Scholar, EBSCOhost*.

3. Pirog, T., & Ivanov, M. (2022). Destruction of biofilms under the influence of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants, synthesized in the presence of competitive microorganisms. *Ukrainian Food Journal*, 11(2), 291-301. doi: 10.24263/2304-974X-2022-11-2-9

<https://ufj.nuft.edu.ua/indexpre.html?doi=10.24263/2304-974X-2022-11-2-9>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів на руйнування мікробних біоплівки, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«Ukrainian Food Journal» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 358 від 15.03.2019); міжнародна індексація *Emerging Sources Citation Index* (складова *Web of Science*), *Scopus, Google Scholar, Index Copernicus, Directory of Research Journal Indexing (DRJI), Universal Impact Factor, EBSCO, Ulrichs Web, ERIH PLUS, Directory of Open Access Scholarly Resources, Directory of Open Access Journal, CAS Source Index, Scopus, кuartиль Q4*

4. Pirog, T.P., & Ivanov, M.S. (2023). Microbial co-cultivation: discovery of novel secondary metabolites with different biological activities. *Biotechnologia Acta*, 16(1), 21-39. doi: 10.15407/biotech16.01.021

<https://biotechnology.kiev.ua/index.php/en/journal-archive-en/2023-en/2023-no-1-en/microbial-co-cultivation-discovery-of-novel-secondary-metabolites-with-different-biological-activities-t-p-pirog-m-s-ivanov>

Особистий внесок здобувача: узагальнено сучасні літературні дані щодо спільного культивування продуцентів антимікробних речовин з конкурентними мікроорганізмами, в результаті якого відбувається синтез нових метаболітів з антимікробною та цитотоксичною активністю, не характерною для монокультур, структуровано огляд відповідно до тематики досліджень, написано та оформлено статтю до друку.

«*Biotechnologia acta*» включено у перелік наукових фахових за спеціальністю 162-Біотехнології та біоінженерія, категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 612 від 07.05.2019), міжнародна індексація: CrossRef, Google Scholar, Index Copernicus та ін.

5. Pirog, T.P., & Ivanov, M.S. (2023). Influence of biological inductors on the synthesis and biological activity of microbial metabolites. *Biotechnologia Acta*, 16(6): 17-33. doi: 10.15407/biotech16.06.017

<https://biotechnology.kiev.ua/index.php/en/journal-archive-en/2023-en/2023-no6-en/influence-of-biological-inductors-on-the-synthesis-and-biological-activity-of-microbial-metabolites-t-p-pirog-m-s-ivanov>

Особистий внесок здобувача: узагальнення існуючих в літературі наукових досліджень, пов'язаних з впливом фізіологічно різних типів біологічних індукторів на синтез та біологічну активність вторинних метаболітів мікроорганізмів, обґрунтовано актуальність теми та її значення для розвитку науки, написано та оформлено статтю до друку.

«*Biotechnologia acta*» включено у перелік наукових фахових за спеціальністю 162-Біотехнології та біоінженерія, категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки

України № 612 від 07.05.2019), міжнародна індексація: CrossRef, Google Scholar, Index Copernicus та ін.

Статті у інших наукових виданнях

6. Pirog, T.P., Ivanov, M.S., & Shevchuk T.A. (2023). Biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of competitive bacteria *Bacillus subtilis* BT-2. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 85(4), 21-33. doi: 10.15407/microbiolj85.04.021

<https://ojs.microbiolj.org.ua/index.php/mj/article/view/13>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної, антимікробної активності та здатності до руйнування біоплівки мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«*Mikrobiolohichnyi Zhurnal*» включено у перелік наукових фахових видань України за спеціальністю 091-Біологія, категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1471 від 26.11.2020); міжнародна індексація: Scopus, кuartиль Q4.

7. Pirog T.P., Ivanov M.S., Shevchuk T.A., & Blagodyr D.O. (2024). The effect of pro- and eukaryotic inducers on the synthesis and antimicrobial activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 86(4): 41-52. doi: 10.15407/microbiolj86.04.041

<https://ojs.microbiolj.org.ua/index.php/mj/article/view/206>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної, антимікробної активності та здатності до руйнування біоплівки мікробних поверхнево-активних речовин за наявності прокаріотичних та еукаріотичних біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«*Mikrobiolohichnyi Zhurnal*» включено у перелік наукових фахових видань України за спеціальністю 091-Біологія, категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1471 від 26.11.2020); міжнародна індексація: Scopus, кuartиль Q4.

Тези доповідей у матеріалах конференцій

1. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2021). Представники роду *Acinetobacter* як продуценти біоемульгаторів. *Матеріали 87 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 15-16, с 388.
2. Іванов, М.С., & Ярова, Г.А. (2021). Вплив бактерій роду *Bacillus* на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Збірник матеріалів IX науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 28-29, с 77-78.
3. Іванов, М.С., Пирог, Т.П., & Ярова, Г.А. (2021). Вплив біологічних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Програма та тези матеріалів X Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції»*, Київ, Україна, Листопад 9-10, с 22-24.
4. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Антифунгальна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень-травень, с 312.
5. Іванов, М., Благодир, Д., & Пирог, Т. (2022). Вплив конкурентних грамнегативних бактерій на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень-травень, с 304.
6. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив біологічних індукторів на здатність синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 поверхнево-активних речовин руйнувати біоплівки. *Матеріали II міжнародної науково-практичної*

Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології», Харків, Україна, Травень 20, с 114-115.

7. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Руйнування дріжджових біоплівочок під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 за наявності біологічних індукторів. *Збірник матеріалів XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття»*, Київ, Україна, Червень 3, с 45-46.

8. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Деструкція бактеріальних біоплівочок під впливом поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* С-8. *Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології»*, Харків, Україна, Жовтень 13, с 113-115.

9. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив дріжджів роду *Saccharomyces* на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології»*, Харків, Україна, Жовтень 13, с 173-175.

10. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Грамнегативні конкурентні бактерії як фактор регуляції біологічної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 8-9.

11. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 23-25.

12. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив еукаріотичних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 60-61.

13. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив на біоплівки поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності конкурентних грамнегативних бактерій. *Програма та тези матеріалів XI Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції»*, Київ, Україна, Листопад 8, с 22-23.

14. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 з високою антимікробною активністю. *Програма та тези матеріалів XI Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції»*, Київ, Україна, Листопад 8, с 39-40.

15. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив грамнегативних бактерій на синтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 з високою біологічною активністю. *Матеріали III міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 24, с 111-112.

16. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 на здатність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 руйнувати біоплівки. *Матеріали III міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 24, с 302-303.

17. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив бактерій роду *Bacillus* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *«Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині»*:

матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції, Харків, Україна, Березень 24, с 81-83.

18. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Деструкція дріжджових біоплівочок за дії поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності грамнегативних бактерій. *Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 3-7, с 394.

19. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив дріжджів роду *Saccharomyces* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 3-7, с 418.

20. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Руйнування дріжджових біоплівочок під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 за наявності бактеріальних індукторів. *«Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування»: матеріали міжнародної наукової конференції*, Харків, Україна, Квітень 27-28, с 20-21.

21. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 за наявності дріжджів роду *Saccharomyces*. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології: матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія Володимировича*, Харків, Україна, Травень 10-11, с 74-75.

22. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив конкурентних грампозитивних бактерій на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *«Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник*

матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 32 – 35.

23. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Дріжджі роду *Saccharomyces* як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 з високою антибактеріальною активністю. «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 43 - 45.

24. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив фізіологічного стану індуктора на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 45 - 48.

25. Іванов, М.С., Пирог, Т.П., & Шевчук, Т.А. (2023). Вплив *Bacillus subtilis* БТ-2 на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, Київ, Україна, Травень 19, с 99-100.

26. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Деструкція біоплівки під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 за наявності *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1. «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, Київ, Україна, Травень 19, с 157-158.

27. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив грамнегативних конкурентних бактерій на властивості поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Технологія-2023: матеріали міжн. наук.-практ. конф*, Київ, Україна, Травень 26, с 16.

28. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив бактерій роду *Enterobacter* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. Збірник матеріалів XII Міжнародної науково-технічної конференції "Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції", Київ, Україна, Листопад 7, с 39-40.

29. Ivanov, M.S., Blagodyr, D.O., & Pirog, T.P. (2023). Competitive gram-positive and gram-negative bacteria as a factor in the regulation of the biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants. *Abstract book of the International Scientific and Practical Conference “Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period”*, Kyiv, Ukraine, November 15-16, p 29-31.
30. Ivanov, M.S., Parfeniuk, M.A., & Pirog, T.P. (2023). Antifungal activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of biological inductors. *Abstract book of the International Scientific and Practical Conference “Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period”*, Kyiv, Ukraine, November 15-16, p 85-86.
31. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Використання конкурентних бактерій з метою регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *Збірник XI науково-практичної конференції Школи молодих науковців АТ «Фармак» на тему: «Наука, інновації та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Листопад 29-30, с 6-7.
32. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* С-8. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології: збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю з дня заснування кафедри біохімії*, Харків, Україна, Березень 7, с 441- 444.
33. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Регуляція антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 за умов спільного культивування із біологічним індуктором. *Матеріали IV міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 22, с 165-167.
34. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Конкурентні грамнегативні бактерії як фактор регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *Матеріали 90 Ювілейної*

Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті», Київ, Україна, Квітень 11-12, с 377.

35. Іванов, М., & Пирог, Т. (2024). Руйнування дріжджових біоплівки під впливом поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* C-8. *Матеріали 90 Ювілейної Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 11-12, с 395.

36. Іванов, М.С., Благодар, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Використання бактерій роду *Enterobacter* для регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали Міжнар. наук. конф. «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування»*, Харків, Україна, Квітень 25-26, с 49-50.

37. Іванов, М.С., Благодар, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих під час спільного культивування з конкурентними грамнегативними бактеріями. *Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Стан і перспективи розвитку хімічної, харчової та парфумерно-косметичної галузей промисловості»*, Хмельницький, Україна, Травень 31, с 71-73.

38. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2024). The ability of surfactants synthesised by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 under the action of eukaryotic inductor to destroy yeast biofilms. *Abstract book of the V Scientific Conference of Young Researchers “Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology”*, Kyiv, Ukraine, November 19-20, p 18.

39. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2024). Дріжджі роду *Saccharomyces* як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 з високою здатністю до руйнування бактеріальних біоплівки. *Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції :*

Програма та тези матеріалів XIII Міжнародної науково-технічної конференції, Київ, Україна, Листопад 21, с 70-71.

40. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2025). Antiadhesive activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesised with competitive gram-negative bacteria. *Матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», Харків, Україна, Березень 21, с 17-18.*

41. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2025). *Saccharomyces* yeast as an inductor of synthesis of surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 with high antiadhesive activity. *Матеріали V міжнародної науково-практичної-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології», Харків, Україна, Березень 28, с 35-37.*

SUMMARY

Ivanov M.S. “Influence of biological inductors on the antimicrobial and antiadhesive activity of surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241” is a qualified scientific work on the rights of a manuscript.

This dissertation is for the degree of Doctor of Philosophy in speciality 162 Biotechnology and bioengineering. It is submitted by the National University of Food Technologies of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2025.

Microbial surfactants represent a set of promising alternatives to traditional antibiotics. These surface-active secondary metabolites are produced by bacteria, yeast, and fungi. They reduce surface/interfacial tension and exhibit a wide range of biological activities that can be used against pathogens. Unlike traditional antibiotics, which target specific cellular processes, microbial surfactants can break down microbial cell membranes and detach cells from surfaces. This prevents the initial stage of adhesion that leads to biofilm formation. Furthermore, the efficacy of surfactants such as rhamnolipids and lipopeptides in dispersing biofilms and disrupting the protective matrix of bacteria has been demonstrated through comparative studies, which have shown these microbial surfactants to significantly outperform conventional antibiotics in reducing biofilm biomass. This dual functionality, which targets both planktonic microbial cultures and biofilms, positions surfactants as attractive candidates in the fight against drug-resistant infections associated with biofilms.

It is crucial to acknowledge that microbial surfactants are typically synthesized as complex mixtures of related molecules rather than as single compounds, with the exact composition and properties of these metabolites exhibiting significant variability depending on the producing strain and culture conditions. Because of this variability, optimizing fermentation conditions is a key aspect of developing surfactants for practical use. The employment of biological inductors (a method of co-cultivating microorganisms) has been demonstrated to enhance the production of microbial surfactants derivatives, which demonstrate heightened antimicrobial and antiadhesive properties. Consequently, microbial surfactants are a promising class of secondary metabolites, whose effectiveness is

determined by a multifaceted combination of biological activity and environmental factors, such as the utilization of industrial waste as substrates.

The present dissertation is devoted to the study of the regulation of biological activity (antimicrobial, antiadhesive, and role in the destruction of bacterial and yeast biofilms) of surfactants synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 on glycerol of different degrees of purification (purified and crude glycerol) together with biological inductors in the form of prokaryotic and eukaryotic microorganisms.

The study concluded that the surfactants *A. calcoaceticus* IMV B-7241 exhibited comparable biological activity regardless of the substrate type (purified glycerol or crude glycerol) or the inductor's physiological state *Bacillus subtilis* BT-2, *Enterobacter cloacae* C-8, or *Saccharomyces cerevisiae* BTM-1 (live cells, inactivated cells, and the corresponding cell-free extracts) exhibited higher biological activity (antimicrobial, antiadhesive, and biofilm destruction) compared to surfactants synthesized without an inductor.

The surfactants synthesized by *A. calcoaceticus* IMV B-7241 on glycerol medium of various degrees of purification with the addition of the prokaryotic inductor *Bacillus subtilis* BT-2 in any physiological state had the values of minimum inhibitory concentrations against *Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* BMS-1, *Escherichia coli* IEM-1, *Pseudomonas* sp. MI-2 in the range of 0.23-18.4 µg/ml. This is significantly lower than the MIC value without the use of inductors, which ranged from 2.8-19.6. When the gram-negative inductor *Enterobacter cloacae* C-8 was introduced, the MIC of surface-active substances synthesized in its presence against *Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* BMS-1, *Escherichia coli* IEM-1, and *Pseudomonas* sp. MI-2 was reduced by 3-28 times. The utilization of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* BTM-1 as an inductor in the surfactant culture medium of the IMV B-7241 strain resulted in a reduction of the minimum inhibitory concentrations against *Enterobacter cloacae* C-8, *Staphylococcus aureus* BMS-1, *Bacillus subtilis* BT-2, and *Proteus vulgaris* PA-12 from 16-56 to 0.85-19.2 µg/ml.

The synthesis of surfactants by *A. calcoaceticus* IMV B-7241 in a glycerol medium of varying degrees of purification, with the introduction of prokaryotic (*B. subtilis* BT-2, *E. cloacae* C-8) and eukaryotic (*S. cerevisiae* BTM-1) types of inductors, has been shown to

reduce the MIC against of *Candida albicans* D-6 and *Candida tropicalis* PE-2 were reduced to 1.87-18.4 µg/ml, 1-20 µg/ml, 1.1-19.2 µg/ml, or 1.1-6 times, 2-14 times, 2.5-18.5 times, respectively, compared to the control.

The results of the antimicrobial activity were correlated with the activity of one of the key enzymes of aminolipid biosynthesis in the cells of the *A. calcoaceticus* IMV B-7241 producer, NADP⁺-dependent glutamate dehydrogenase: the activity increased by 1.5-2 times compared to the variant of cultivation of the IMV B-7241 strain without inductors, but only in the medium where the producer was cultivated with purified glycerol.

In the context of investigating the effects of surfactants produced by *A. calcoaceticus* IMV B-7241, synthesized on purified glycerol or crude glycerol with the incorporation of live, inactivated *Bacillus subtilis* BT-2 cells or their culture extracts, the degree of adhesion of *P. vulgaris* PA-12, *B. subtilis* BT-2, *E. cloacae* C-8, *S. aureus* BMS-1, *C. tropicalis* PE-2, and *C. albicans* D-6 to steel and linoleum was 1.1-5.9 times lower when using similar surfactant preparations synthesized without inductors. Furthermore, the use of the *E. cloacae* C-8 inductor for the cultivation of *A. calcoaceticus* surfactant IMV B-7241 led to a reduction in the degree of adhesion of bacterial and yeast cultures to steel, tile, and linoleum, with a range of 1.1-1.4 times lower compared to surfactants obtained in a medium without an inductor. Furthermore, when treating surfactants synthesized by IMV strain B-7241 with the addition of *S. cerevisiae* BTM-1 yeast in different physiological states, the adhesion of *P. vulgaris* PA-12, *B. subtilis* BT-2, and *C. albicans* D-6 to steel and tile was 1.05-1.7 times lower compared to the effect of surfactants obtained without inductor. Furthermore, the adhesion of *B. subtilis* BT-2 and *P. vulgaris* PA-12 to linoleum under comparable conditions was 1.2-1.6 times lower than that of surfactant treatments not containing inductors.

The efficiency of destruction of bacterial *E. coli* IEM-1, *Pseudomonas* sp. MI-2, *S. aureus* BMS-1, *B. subtilis* BT-2, *P. vulgaris* PA-12 and yeast *C. tropicalis* PE-2 and *C. albicans* D-6 biofilms when treated with surfactants synthesized by strain IMV B-7241 on glycerol of different quality (purified, or crude) in the presence of the inductors *E. cloacae* C-8, *B. subtilis* BT-2 and *S. cerevisiae* BTM-1 of different physiological states in the producer medium was 1.05-2.5 times higher than that established for control surfactants treated without inductors.

Consequently, the introduction of biological inductors into the surfactant producer culture medium makes it possible to obtain not only highly effective microbial preparations with high antimicrobial, antiadhesive activity and the ability to effectively destroy biofilms of a wide range of test cultures, but also helps to solve the environmental problem of toxic industrial waste disposal (crude glycerol).

Key words: producer strain, microbiological synthesis, cultivation, bacteria, yeast, surfactants, antimicrobial activity, antibiotic resistance, biofilms, inductor, microbial synthesis.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. СТРАТЕГІЇ РЕГУЛЯЦІЇ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБНИХ МЕТАБОЛІТІВ ЗА КОМБІНОВАНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТІВ	29
1.1 Утворення нових метаболітів з різною біологічною активністю.....	30
1.1.1 Метаболіти з антимікробною активністю.....	31
1.1.2 Метаболіти з цитотоксичною та антимікробною активністю	46
1.2 Вплив біологічних індукторів на синтез та біологічну активність мікробних метаболітів.....	60
1.2.1 Інактивовані клітини	61
1.2.2 Живих клітини.....	69
1.2.3 Супернатант після вирощування індукторів	75
1.3 Вплив прокаріотичних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин <i>Nocardia vaccinii</i> IMB B-7405, <i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i> IMB B-7241 і <i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017.....	80
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ	85
2.1 Об'єкти досліджень	85
2.2 Умови та особливості культивування штаму продуцента поверхнево- активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	85
2.3. Підготовка прокаріотичних та еукаріотичних індукторів для культивування продуцента <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241.....	86
2.4. Визначення концентрації та одержання препаратів поверхнево-активних речовин	87
2.5. Визначення мінімальної інгібуючої концентрації ПАР	88
2.6. Дослідження ступеня руйнування біоплівки під дією поверхнево-активних речовин	89
2.7. Визначення антиадгезивної дії поверхнево-активних речовин	90
2.8. Визначення активності ключових ферментів біосинтезу поверхнево- активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	91
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ПРОКАРІОТИЧНИХ ІНДУКТОРІВ У РІЗНОМУ ФІЗІОЛОГІЧНОМУ СТАНІ НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВИХ РЕЧОВИН <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241	93
3.1. Вплив фізіологічного стану <i>Enterobacter cloacae</i> C-8 та <i>Bacillus subtilis</i> БТ- 2 на антимікробну активність поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus</i> IMB B-7241	94

3.2. Деструкція мікробних біоплівки за дії поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241, синтезованих за наявності прокаріотичних індукторів у поживному середовищі	100
3.3. Адгезія мікроорганізмів на абіотичних поверхнях, оброблених поверхнево-активними речовинами <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241, утвореними за внесення у середовище культивування <i>Enterobacter cloacae</i> C-8 чи <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	108
3.4. Вплив прокаріотичних індукторів на активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	114
Висновки до розділу 3	117
РОЗДІЛ 4. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMB B-7241, СИНТЕЗОВАНИХ В РІЗНИХ УМОВАХ КУЛЬТИВУВАННЯ ЗА НАЯВНОСТІ ЕУКАРІОТИЧНИХ ІНДУКТОРІВ.....	118
4.1. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих <i>A. calcoaceticus</i> IMB B-7241 за внесення у середовище <i>Saccharomyces cerevisiae</i> БТМ-1.....	119
4.2. Здатність поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241, синтезованих за наявності еукаріотичних індукторів, до руйнування біоплівки.....	124
4.3. Вплив поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241 одержаних за внесення у середовище <i>Saccharomyces cerevisiae</i> БТМ-1 на прикріплення мікроорганізмів до абіотичних поверхонь	130
4.4. Активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241, синтезованих за наявності дріжджових індукторів	135
Висновки до розділу 4.....	137
ВИСНОВКИ.....	138
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	140
ДОДАТКИ	155

ВСТУП

1.Актуальність теми. Антибіотикорезистентність стала критичною проблемою глобальної охорони здоров'я, що насамперед зумовлена неконтрольованим застосуванням антибіотиків, недотриманням терапевтичних доз та нерациональним вибором препаратів. Зазначено, що такі підходи сприяють розвитку резистентних штамів, особливо тих, що здатні утворювати біоплівки - структуровані мікробні спільноти, укладені в позаклітинний матрикс (Nathan, 2020). Біоплівки роблять значний внесок у стійкість до протимікробних препаратів, захищають бактерії від антибіотиків та імунних реакцій організму, що робить їх основною проблемою в лікуванні інфекцій, пов'язаних з медичними пристроями, ранами та хронічними захворюваннями, роблячи багато комерційних методів лікування неефективними (Liu, Prentice & Webber, 2024).

У світлі зростаючої резистентності до ліків дослідники вивчають інноваційні стратегії для відкриття або вдосконалення антимікробних сполук. Одним із таких стратегічних підходів є культивування відомих мікроорганізмів-продуцентів антибіотиків у присутності інших конкурентних мікроорганізмів - метод, який іноді називають використанням «біологічних індукторів» (Westhoff та ін., 2021). Спільне культивування імітує мікробні взаємодії в природній екосистемі, по суті, «обманом» дозволяє отримати нові біологічно активні молекули та підвищити ефективність відомих антибіотиків (Wakefield та ін., 2017; Hoshino та ін., 2019; Westhoff та ін., 2021).

Серед перспективних альтернатив традиційним антибіотикам - мікробні поверхнево-активні речовини (біосурфактанти), які є поверхнево-активними вторинними метаболітами, що виробляються бактеріями, дріжджами та грибами. Ці сполуки не тільки зменшують поверхневий/міжфазний натяг, але й проявляють широкий спектр біологічної активності, яку можна використовувати проти патогенних мікроорганізмів. Зокрема, багато біосурфактантів продемонстрували пряму антимікробну дію (проти бактерій, грибків і навіть вірусів), а також антиадгезивні та антибіоплівкові властивості (Patel та ін., 2021; Stincone та ін., 2020; Ramchandran та ін., 2020; Leães та ін., 2016; Fouad & Khalid, 2016).

Спочатку у ході експериментальних досліджень було встановлено можливість використання промислових відходів (відходи виробництва біодизелю, меляса, відпрацьована соняшникова олія) для одержання поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 (Пирог, Софилканич, Покора, Шевчук, & Иутинская, 2014). Після цього, були проведені дослідження їх антимікробних та антиадгезивних властивостей (Пирог, Конон, Береговая, Шулякова, 2014; Pirog та ін., 2019) залежність біологічних властивостей ПАР від факторів росту і певних мікроелементів (Пирог, Савенко, Шевчук, 2016) та впливу катіонів калію та натрію на NADP⁺-залежну глутаматдегідрогеназну активність ферментів біосинтезу гліко- та аміноліпідів ПАР (Pirog, Lutsay, Shevchuk, Iutynska, 2021).

Спільне культивування продуцентів цінних метаболітів з біологічними індукторами є широко розповсюдженою методикою одержання новим сполук за рахунок активації мовчазних генів синтезу, проте в цих роботах основний фокус дослідження йде на факт підвищення концентрації प्राутично цінних метаболітів або синтез ще невідомих у монокультури чи взагалі похідних сполук і майже не досліджують визначенню та регуляції утворених сполук (Wakefield та ін., 2017; Zhang, Tian, & Wang, 2017a; Thu, та ін., 2021)

На основі досліджень викладених вище нами було припущено, що синтезовані на гліцерині різного ступення очищення поверхнево-активні речовини *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 можна культивувати разом із біологічними індукторами, котрими будуть виступати не тільки прокаріотичні, але і еукаріотичні мікроорганізми, задля регуляції, а саме підвищення антимікробної активності здатності до прямого руйнування мікробних біоплівки та як один із варіантів опосередкованої боротьби з біоплівками – зниження здатності мікроорганізмів до адгезії до поверхонь.

2.Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана на базі кафедри біотехнології та мікробіології Національного університету харчових технологій (НУХТ) згідно плану науково-дослідної роботи кафедри біотехнології і мікробіології ««Біотехнологічний потенціал мікроорганізмів природних та техногенних екосистем (2019-2023 рр., № державної реєстрації 0119U001485) та «Дослідження мікробіоти природних та антропогенно порушених

екосистем як потенційних біологічних агентів» (2024-2028 рр., № державної реєстрації 0124U001415).

3. Мета і завдання експериментальних досліджень.

Метою дисертаційної роботи є дослідити біологічні властивості (антимікробні, антиадгезивні, у тому числі й роль у руйнуванні біоплівки) поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих на гліцерині різного ступення очистки (очищений гліцерин та відходи виробництва біодизелю) з різними прокаріотичними та еукаріотичними мікроорганізмами у якості біологічних індукторів.

Виконання **наступних** завдань експериментальних досліджень були зосереджені для досягнення даної мети:

- дослідити залежність впливу про- та еукаріотичних індукторів на біологічну активність поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 від якості субстрату: очищений гліцерин, відходи виробництва біодизелю;

- встановити можливість підвищення антимікробної активності щодо бактеріальних та дріжджових тест-культур поверхнево-активних речовин, синтезованих штамом-продуцентом IMB B-7241 за внесення прокаріотичних та еукаріотичних індукторів у різному фізіологічному стані (живі клітини, інактивовані клітини та відповідний супернатант);

- дослідити вплив наявності у середовищі культивування ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 різних типів індукторів на активність ключових ферментів біосинтетичних шляхів синтезу поверхнево-активних аміно- та гліколіпідів, зокрема зміна активності NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази;

- визначити роль у руйнуванні біоплівок ПАР, одержаних за наявності у середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 еукаріотичних та прокаріотичних індукторів у різному фізіологічному стані;

- дослідити можливість регуляції антиадгезивної активності мікробних ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за їх синтезу у різних умовах культивування (фізіологічний стан індукторів прокаріотичного та еукаріотичного типів).

4. Наукова новизна отриманих результатів.

Продемонстровано, що біологічну активність ПАР, отриманих за культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, можна ефективно контролювати шляхом введення до культурального середовища з гліцерином різної якості (очищений, відходи виробництва біодизелю) прокаріотичних і еукаріотичних індукторів. Ці індуктори використовувалися у різних фізіологічних станах: живі клітини, термічно інактивовані клітини та їхній супернатант.

Одним із ключових результатів є встановлення можливості значного підвищення антимікробної активності ПАР, синтезованих за наявності біологічних індукторів. Зокрема, активність ПАР, утворених за наявності у середовищі культивування продуцента живих або інактивованих клітин, а також супернатанту *Bacillus subtilis* БТ-2, *Enterobacter cloacae* С-8 чи *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1, могла зростати до 50 разів порівняно з контрольними зразками, отриманими без індукторів.

Дослідження також показали, що обробка абіотичних поверхонь (сталь, лінолеум, кахель) розчинами ПАР, синтезованими за додавання до поживного середовища, в якому вирощували *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 прокаріотичних чи еукаріотичних індукторів, зменшує адгезію бактеріальних і дріжджових тест-культур в 1,1–6 разів, ніж за використання контрольних препаратів ПАР.

Встановлено можливість підвищення в 1,1–2,5 рази ступеня руйнування біоплівки бактеріальних та дріжджових тест-культур за дії ПАР, синтезованих штамом ІМВ В-7241 у середовищі з прокаріотичними та еукаріотичними індукторами, порівняно з показниками, встановленими для препаратів ПАР, синтезованих без біологічних індукторів.

З'ясовано, що підвищена біологічна активність поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, отриманих у присутності біологічних індукторів, може бути пов'язана зі зростанням вмісту аміноліпідів у складі комплексу ПАР, що підтверджується 1,5–2-разовим збільшенням активності ключового ферменту їхнього біосинтезу – NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази.

5. Практичне значення одержаних результатів.

Висока антимікробна (мінімальні інгібуючі концентрації 0,23-120 мкг/мл), а також антиадгезивна активність (у тому числі й здатність до руйнування біоплівки) поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за додавання до середовища прокаріотичних та еукаріотичних індукторів щодо широкого спектру розповсюджених потенційно патогенних бактерій та дріжджів, дає змогу рекомендувати їх як компоненти дезінфікуючих чи мийних засобів для обробки приміщень, інвентарю, обладнання у різних галузях промисловості.

Результати наукових досліджень впроваджені у навчальний процес як модулі навчальних дисциплін «Інтенсифікація технологій мікробного синтезу» та «Біотехнологічні студії» для підготовки докторів філософії за спеціальністю 162 «Біотехнології і біоінженерія».

6.Особистий внесок здобувача.

Дисертація є самостійною роботою автора. Здобувачем вищої освіти ступеня доктора філософії за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія» проаналізовано вітчизняні та іноземні літературні джерела з проблематики теми дисертації, проведено експериментальні дослідження, проаналізовано та узагальнено отримані у ході експериментів дані та проведених їх порівняльний аналіз із наявними у літературі результатами інших досліджень.

Планування експериментальних робіт, їх аналіз, підготовка публікацій з результатами експериментальних досліджень проходили безпосередньо за участі наукового керівника – доктора біол. наук, професора Пирог Тетяни Павлівни.

Визначення антимікробної активності, антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин та попередня підготовка проб, посівного матеріалу, одержання досліджуваних культур за внесення прокаріотичних індукторів здійснювалася спільно з здобувачами кафедри біотехнології і мікробіології НУХТ Ярової Г.А., Парфенюк М.А.; з аналогічних досліджень за внесення еукаріотичних індукторів спільно з Парфенюк М.А. та Благодир Д.О., визначення активності ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних гліко- та аміноліпідів – з провідним інженером відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України Шевчук Т.А., які є співавторами публікацій.

7.Список публікацій за темою дисертації.

За результатами роботи опубліковано 48 наукових праць, у тому числі 7 статей, серед них 1 – у включених у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія А (у журналі бази даних Web of Science та Scopus), 4 - у наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія Б (індексація у CrossRef, Google Scholar); 41 тез доповідей – опублікованих у закордонних та вітчизняних науково-практичних конференціях.

8.Структура роботи.

Дисертаційна робота складається із вступу, 4 розділів, висновків та списку використаних джерел (123 найменування) та 2 додатків. Основний текст викладено на 155 сторінках тексту, який містить 8 таблиць та 28 рисунків.

РОЗДІЛ 1. СТРАТЕГІЇ РЕГУЛЯЦІЇ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБНИХ МЕТАБОЛІТІВ ЗА КОМБІНОВАНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ПРОДУЦЕНТІВ

Протягом останніх десятиліть наслідки надмірного та неправильного використання антибіотиків, а також соціально-економічні фактори значно спричинили прискорене поширення антибіотикорезистивних бактерій, зробивши їх серйозною проблемою для людства. Важливішим є прискорити процеси пошуку нових вторинних антимікробних метаболітів. І з одним з наєфективніших методів являється спільний культивування мікроорганізмів, при якому продуцент цільових продуктів культивується разом з конкурентними мікроорганізмами (індукторами), у відповідь на присутність яких активуються мовчазні біосинтетичні гени штаму-продуцента і спостерігається підвищення біологічної активності синтезованих вторинних метаболітів і/або навіть синтез нових метаболітів. Перспективним варіантом спільного культивування мікроорганізмів також є використання так званих біологічних індукторів. Аналіз літератури показав, що в таких дослідженнях в культуральне середовище додають або живі, або інактивовані клітини індуктора в значно менших концентраціях порівняно з клітинами-продуцентами кінцевих метаболітів, або в якості індуктора використовують надосадову рідину (фільтрат) після культивування конкурентного мікроорганізму.

В огляді узагальнено сучасні літературні дані з двох напрямків: по-перше, про спільне культивування продуцентів антимікробних речовин з конкурентними мікроорганізмами, в результаті якого відбувається синтез нових метаболітів з антимікробною та цитотоксичною активністю, не характерною для монокультур; по-друге, про вплив фізіологічно різних типів біологічних індукторів на синтез та біологічну активність мікробних вторинних метаболітів. При спільному культивуванні грибів, бактерій та грибів з бактеріями спостерігається синтез нових антимікробних та протипухлинних метаболітів, які класифікуються як алкалоїди, фенілпропаноїди, макроліди, полікетиди, циклопептиди, терпеноїди, антрахінони та стероїди. Разом з тим, за даними літератури та власних експериментальних досліджень, використання індукторів є ефективним підходом не тільки для

інтенсифікації синтезу бактеріоцинів, поверхнево-активних речовин та антибіотиків, але й для підвищення їх біологічної активності. Крім того, це часто призводить до виявлення нових антимікробних сполук, які не властиві даному продуценту. Проте механізми впливу індукторів на синтез біологічно активних вторинних метаболітів потребують додаткового вивчення, оскільки існують свідчення в літературі про те, що їх додавання до середовища культивування не завжди стимулює збільшення виробництва кінцевого продукту. Окрім цього, біологічна активність вторинних метаболітів залежить від умов вирощування продуцента, включаючи наявність біологічних індукторів у середовищі культивування продуцента.

1.1 Утворення нових метаболітів з різною біологічною активністю

На сьогодні кількість досліджень, присвячених розробці нових антибіотичних препаратів знижується через зростаючу резистентність патогенних мікроорганізмів до них, що обумовлено їхнім надмірним використанням у медицині та сільському господарстві (Nathan, 2020).

Ця ситуація може мати небезпечні наслідки для світового населення, тому існує нагальна потреба у пошуку нових безпечних природних сполук з антимікробною активністю.

Мікроорганізми, що населяють різні наземні та морські біотопи, є джерелом нових біологічно активних природних сполук, однак однією з основних проблем у процесі відкриття нових мікробних метаболітів є повторна ізоляція вже відомих сполук. Крім того, біологічна активність вторинних метаболітів мікроорганізмів значною мірою залежить від умов культивування продуцентів, тому важливим завданням сучасної біотехнології є розроблення підходів, що дозволяють отримувати кінцевий продукт зі стабільними та заданими властивостями. Останні досягнення мікробної геноміки чітко продемонстрували, що біосинтетичний потенціал мікроорганізмів як продуцентів метаболітів із унікальними властивостями значно вищий, ніж очікувалося, оскільки значна кількість генних кластерів мікроорганізмів залишається «мовчазною» за типовими умовами культивування (Wakefield та ін., 2017; Hoshino та ін., 2019).

На цей час для підвищення біосинтетичної здатності продуцентів практично цінних сполук застосовуються як традиційні фізіологічні підходи (оптимізація умов культивування, введення екзогенних попередників у поживне середовище), так і методи генетичної та метаболічної інженерії. Використання зазначених методів дозволило ефективно активувати «мовчазні» гени як один із механізмів отримання нових вторинних метаболітів.

Альтернативним підходом до хімічної модифікації відомих сполук для підвищення їхньої антимікробної активності є стратегія ко-культивування мікроорганізмів, яка перевершує інші методи за економічністю та зручністю, оскільки не потребує дорогих реагентів чи методів генної маніпуляції (Gomez-Escribano & Bibb, 2014; Zhang та ін., 2017a; Li та ін., 2016).

Крім того, використання методів спільного культивування, коли продуцент кінцевого продукту культивується разом із конкурентними мікроорганізмами (індукторами), є перспективним підходом до підвищення активності існуючих або пошуку нових сполук, які не утворюються у монокультурах мікроорганізмів. Це можуть бути метаболіти з вираженими антимікробними (Yu та ін., 2019a; Abdel-Wahab та ін., 2019a), антагоністичними (Pishchany та ін., 2018; Wu та ін., 2018) та цитотоксичними (Stierle та ін., 2017) властивостями.

Цей огляд має на меті узагальнити актуальні літературні дані щодо ко-культивування продуцентів антимікробних сполук із конкурентними мікроорганізмами, що призводить до синтезу нових біологічно активних метаболітів, не характерних для монокультур.

1.1.1 Метаболіти з антимікробною активністю

У дослідженнях, присвячених ко-культивуванню мікроорганізмів, опублікованих за останні 5–7 років, повідомляється про синтез алкалоїдів (Zhu та ін., 2011; Ding та ін., 2017; Thissera та ін., 2020; Moussa та ін., 2019), фенілпропаноїдів (Yang та ін., 2018; Yu та ін., 2019b; Nonaka та ін., 2011), макролідів (Yu та ін., 2019a; Zhu та ін., 2011; Hoshino та ін., 2018a; Hoshino та ін., 2018b), полікетидів (Stroe та ін., 2020; Anjum та ін., 2018; Onaka та ін., 2011; Park та ін., 2017), циклопептидів (Wu та

ін., 2018), терпеноїдів (Li та ін., 2020a; Meng та ін., 2020) та інших сполук (Wang та ін., 2019; Ola та ін., 2013; Shi та ін., 2017a; Adnani та ін., 2017; Sugiyama та ін., 2016).

Слід зазначити, що синтезовані нові метаболіти демонструють антибактеріальні та протигрибкові властивості й не утворюються у монокультурах мікроорганізмів.

Синтез нових антимікробних метаболітів спостерігається під час ко-культивування мікроміцет- мікроміцет (Stierle та ін., 2017; Zhu та ін., 2011; Ding та ін., 2017; Yang та ін., 2018; Yu та ін., 2019b; Nonaka та ін., 2011; Li та ін., 2020a; Meng та ін., 2020), бактерія-бактерія (Anjum та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018a; Hoshino та ін., 2018b; Adnani та ін., 2017; Sugiyama та ін., 2016; Onaka та ін., 2011; Park та ін., 2017) та мікроміцет-бактерія (Yu та ін., 2019a; Wu та ін., 2018; Thissera та ін., 2020; Moussa та ін., 2019; Wang та ін., 2019; Stroe та ін., 2020; Ola та ін., 2013; Shi та ін., 2017a).

Спільне культивування мікроміцетів

Новий алкалоїд, ідентифікований як аспергіцин, був виділений зі спільної культури *Aspergillus* FSY-01 та *Aspergillus* FSW-02 разом із неоаспергіловою кислотою і ергостеролом (Zhu та ін., 2011). Встановлено, що аспергіцину притаманна висока антимікробна активність щодо бактеріальних тест-культур (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus dysenteriae*, *Bacillus proteus*, *Escherichia coli*): мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) становили 15,62–62,5 мкг/мл.

Новий похідний нонадриду (імід бісохламінової кислоти), виділений із спільної культури *Phomopsis* sp. K38 та *Alternaria* sp. E33, характеризувався антифунгальними властивостями щодо *Fusarium graminearum* та *Fusarium oxysporum* зі значенням МІК 50 і 60 мкг/мл, відповідно (Ding та ін., 2017).

Фенілпропаноїди є великою та структурно різноманітною групою вторинних метаболітів, що характеризуються наявністю C_6-C_3 -фенольного каркасу, який відіграє вирішальну роль у широкому спектрі біологічної та фармакологічної активності. Нові сполуки цієї групи отримані за спільного культивування грибів роду *Penicillium* (Yang та ін., 2018; Yu та ін., 2019b; Nonaka та ін., 2011). Метаболіти проявляють високу антибактеріальну та антифунгальну активність. Так, зі спільної культури *Aspergillus*

sydowii EN-534 і *Penicillium citrinum* EN-535 були виділені десять аналогів цитриніну, у тому числі й новий димер секо-пенітринол А і пеніцитринол L (Yang та ін., 2018). Нові сполуки проявляють антимікробну активність щодо *Vibrio parahaemolyticus* та *Edwardsiella ictaluri*: мінімальні інгібуючі концентрації становлять 32–64 мкг/мл (Yang та ін., 2018), що нижче, ніж встановлені для пеніксиларинів А–С (Yu та ін., 2019b). Пеніксиларини А–С, виділені із спільної культури *Penicillium crustosum* PRB-2 і *Xylaria* sp. HDN13-24, проявляють антибактеріальну активність щодо *Mycobacterium phlei*, *Bacillus subtilis* і *Vibrio parahaemolyticus* (МІК перебувають у діапазоні від 6,25 до 100 мкг/мл) (Yu та ін., 2019b).

Окрім цього, із спільної культури *Penicillium pinophilum* FKI-5653 і *Trichoderma harzianum* FKI-5655 було виділено новий фенілпропаноїд, названий секопеніцилідом С, що характеризувався антимікробною активністю щодо *Escherichia coli* та *Micrococcus luteus*: МІК становили 16 і 64 мкг/мл, відповідно (Nonaka та ін., 2011).

Серед новосинтезованих терпеноїдів після спільного культивування *Aspergillus terreus* EN-539 і *Paecilomyces lilacinus* EN-531 виявлено новий похідний терреїну – аспертерреїн. Сполука виявляла антибактеріальну дію проти *Alternaria brassicae*, *Escherichia coli*, *Physalospora piricola* та *Staphylococcus aureus* зі значеннями МІК у діапазоні від 4 до 64 мкг/мл (Li та ін., 2020a).

Найефективнішими антимікробними агентами серед нових сполук, синтезованих у результаті спільного культивування *Penicillium bilaiae* MA-267 і *Penicillium chermesinum* EN-480, виявилися два нових похідних меротерпеноїдів – чермебілени А і В (Meng та ін., 2020). МІК чермебілену А щодо *Ceratobasidium cornigerum* і *Edwardsiella tarda* становили всього 0,5 і 0,25 мкг/мл, відповідно, що робить цю сполуку перспективною для використання як протимікробного засобу у клінічній практиці.

Під час спільного культивування *Penicillium fuscum* (Sopp) Raper & Thom та *Penicillium camembertii/clavigerum* Thom синтезувалися п'ять нових 16-членних макролідів (беркелейлактони А, В, D, E, G), серед яких беркелейлактон А продемонстрував найпотужнішу антимікробну дію серед відомих макролідів: МІК

щодо штамів *S. aureus*, *Bacillus anthracis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* і *Candida glabrata* становили 1–2 мкг/мл (Stierle та ін., 2017).

Спільне культивування мікроміцетів і бактерій

Новосинтезована алкалоїдна сполука пулікатин Н, виділена зі спільної культури гриба *Penicillium citrinum* і бактерії *Pantoea agglomerans*, характеризувалася високою антифунгальною активністю. Значення МІК щодо *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger* та *Candida albicans* становили 25, 8,4 та 50 мкг/мл, відповідно (Thissera та ін., 2020).

У той же час новим алкалоїдам, дигідролатеропіرونу та фузацитронам А–D, ідентифікованим після спільного культивування *Streptomyces lividans* та *Fusarium tricinctum*, була притаманна антибактеріальна активність щодо *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* (Moussa та ін., 2019), проте автори цієї статті не наводили показники антимікробної активності цих сполук.

У результаті спільного культивування *Streptomyces rochei* MB037 та *Rhinocladiella similis* 35 отримано макроліди борелідін J та K, які виявилися ефективними антимікробними агентами щодо *S. aureus*: мінімальні інгібуючі концентрації становили 0,195 та 1,563 мкг/мл, відповідно (Yu та ін., 2019a).

З літератури відомо, що тільки один новий антимікробний стероїдний метаболіт (похідне ергостеролу) синтезувався під час спільного культивування *Bacillus wiedmannii* Com1 та *Pleosporales* sp. F46 (Wang та ін., 2019). Ця сполука виявляла антимікробну активність щодо *S. aureus*: зона затримки росту та мінімальна інгібуюча концентрація становили 71 мм та 100 мкг/мл, відповідно.

Помірну антибактеріальну активність щодо *Streptomyces coelicolor* та *Streptomyces lividans* (МІК 1000 і 250 мкг/мл відповідно) продемонстрував новий полікетид фумігермін, синтезований змішаною культурою гриба *Aspergillus fumigatus* з бактеріями *Streptomyces iranensis*, *S. coelicolor*, *S. lividans* та *Streptomyces rapamycinicus* (Stroe та ін., 2020).

У процесі спільного культивування *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 та *Trichoderma asperellum* GDFS1009 спостерігали синтез нових циклопептидів BT1 та

BT2 (Wu та ін., 2018), які пригнічували ріст *Bacillus cinerea* на 47,86% та 66,86%, відповідно.

Нові антимікробні сполуки (маркокарпон С, 2-карбокси-метиламіно-бензойна кислота та цитреїзокумарінол) отримано зі спільної культури *Bacillus subtilis* 168 trpC2 та *Fusarium tricinctum* (Ola та ін., 2013). Макрокарпону С та 2-карбокси-метиламіно-бензойній кислоті притаманна висока антимікробна активність щодо бактеріальних тест-культур (*Bacillus subtilis* 168 trpC2, *Staphylococcus aureus* ATCC 25697, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* B 63230): МІК перебували в межах 2–64 мкг/мл.

Під час комбінованого культивування *Cladosporium* sp. WUH1 та *Bacillus subtilis* CMCC (B) 63501 синтезувалася нова сполука (тригідрокси-бутиловий ефір 4-карбоксидіорцинолу) з антибактеріальною активністю: МІК щодо *Klebsiella pneumoniae*, *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* становили 16, 64, 64 та 32 мкг/мл, відповідно (Shi та ін., 2017a).

Спільне культивування бактерій

У результаті спільного культивування *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 та *Streptomyces coelicolor* S-552 отримано новий полікетид алхівеміцин А (Onaka та ін., 2011). Мінімальна інгібуюча концентрація цього полікетиду щодо *Micrococcus luteus* TP-B100 становила всього 0,06 мкг/мл. Новий антимікробний полікетидний глікозид гордонова кислота синтезувалася у процесі комбінованого культивування *Streptomyces tendae* KMC006 та *Gordonia* sp. KMC005 (Park та ін., 2017). За концентрації гордонової кислоти 10 мкг/диск зони затримки росту *M. luteus* KCCM11548 та *Enterococcus hirae* KCCM11768 становили 1,5–2,5 мм.

У 2018 р. виділено два нових полікетиди (янтінополієніміцини А і В) із спільної культури двох штамів *Janthinobacterium* spp. ZZ145 і ZZ148 (Anjum та ін., 2018). Обидва полікетиди виявляли антифунгальну активність щодо *Candida albicans* (МІК 15,6 мкг/мл). Встановлено, що конгенери янтінополієніміцину є активними проти метицилін-резистентного *S. aureus* та *E. coli*.

Упродовж останніх років як результат спільного культивування бактерій було виявлено чотири нові лактами (Hoshino та ін., 2018a; Hoshino та ін., 2018b). Однією з

таких сполук є умезавамід А, синтезований при спільному культивуванні *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 з *Umezawaea* sp. RD066910 (Hoshino та ін., 2018a). Умезавамід А притаманна помірна антимікробна активність щодо *C. albicans*: за концентрації 5 мкг/диск зона затримки росту становила 1,7 мм.

Під час культивування *Actinosynnema mirum* NBRC 14064 з *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 синтезувалися антимікробні мірілактами С, D, Е (Hoshino та ін., 2018b), які проявляли антимікробну активність щодо *C. albicans*, *Bacillus cereus*, *S. aureus* MSSA (критерій активності в статті не наведено).

Ефективним антимікробним метаболітом є кейцин, синтезований у результаті спільного культивування *Micromonospora* sp. WMMB-235 та *Rhodococcus* sp. (Adnani та ін., 2017). Мінімальні інгібуючі концентрації кейцину щодо *Mycobacterium* sp., *Rhodococcus* sp., *B. subtilis*, *S. aureus* становили 2–8 мкг/мл.

Під час спільного культивування *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 з *Streptomyces nigrescens* HEK616 утворювалася нова сполука спірогеміамінал, яка характеризувалася антимікробною активністю щодо тест-культур *B. subtilis*, *E. coli*, *S. aureus*: за концентрації 100 мкг/диск зони затримки росту становили 2–10 мм (Sugiyama та ін., 2016).

У табл. 1.1 наведено узагальнені дані щодо синтезу нових антимікробних метаболітів у процесі спільного культивування грибів, бактерій, а також грибів із бактеріями. Ці дані свідчать про те, що комбіноване культивування мікроорганізмів є простим, дешевим та достатньо ефективним способом отримання нових метаболітів з потужною антимікробною активністю.

Таблиця 1.1

Характеристика нових антимікробних сполук, синтезованих під час комбінованого культивування мікроорганізмів

Штами	Субстрат	Нова синтезована сполука		Тест-культури для визначення антимікробної активності	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл	Література
		Назва	Клас сполуки			
Спільне культивування мікроміцетів						
<i>Aspergillus</i> FSY-01 + <i>Aspergillus</i> FSW-02	Глюкоза (GYP-середовище)	Аспергіцин	Алкалоїдна сполука Формула CH ₃ COOC ₂ H ₅	<i>Staphylococcus aureus</i>	62,5	Zhu та ін., 2011
				<i>Staphylococcus epidermidis</i>	31,25	
				<i>Bacillus subtilis</i>	15,62	
				<i>Bacillus dysenteriae</i>	15,62	
				<i>Bacillus proteus</i>	62,5	
				<i>Escherichia coli</i>	31,25	
<i>Penicillium pinophilum</i> FKI-5653 + <i>Trichoderma harzianum</i> FKI-5655	Коричневий рис, гліцерин, дріжджовий екстракт, картопляно-декстрозний відвар	Секопеніцилід С	Секотип сполуки пеніциліду Формула C ₂₀ H ₂₂ O ₆	<i>Escherichia coli</i>	16	Nonaka та ін., 2011
				<i>Micrococcus luteus</i>	64	
<i>Penicillium fuscum</i> (Sopp) Raper & Thom +	Картопляно-декстрозне середовище	Берkeleyлактон А Берkeleyлактон В Берkeleyлактон D Берkeleyлактон Е Берkeleyлактон G	Макролід Формула C ₂₃ H ₃₆ O ₁₀ S Макролід	<i>Staphylococcus aureus</i> 13709	4/13/45/24	Stierle та ін., 2017

<i>Penicillium camembertii/clavigerum</i> Thom	(декстроза, картопляний відвар)		Формула $C_{20}H_{30}O_8$ Макролід Формула $C_{20}H_{32}O_7$ Макролід Формула $C_{20}H_{33}O_8$	<i>Streptococcus pyogene</i>	119/50/>90/>50	
				<i>Candida glabrata</i>	31/>400/>90/>50	
				<i>Bacillus subtilis</i>	31/100/>90/>50	
				<i>Candida albicans</i>	>119/>400/>90/>50	
				<i>Bacillus anthracis</i>	8/26/>90/24* *МІК беркейлактону В/ беркейлактону D / беркейлактону Е / беркейлактону G	
<i>Aspergillus sydowii</i> EN-534	Рисове середовище	Секопені-цитринол А	Димер цитриніну	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	64/64*	Yang та ін., 2018

+ <i>Penicillium citrinum</i> EN-535	(рис, кукурудзяне борошно, пептон, глутамат натрію)	Пеніцитринол L	Похідні пеніциліну Формула $C_{23}H_{26}O_6$ Мономер цитриніну Похідні пеніциліну Формула $C_{14}H_{18}O_5$	<i>Vibrio</i> <i>parahaemolyticus</i>	32/64* * - МІК секо-пеніцитринолу А/ пеніцитринолу L	
<i>Penicillium crustosum</i> PRB-2 + <i>Xylaria</i> sp. HDN13-249	Крохмаль, мальтоза, сахароза, дріжджовий екстракт	Пеніксиларин А Пеніксиларин В Пеніксиларин С	Алкільні ароматичні сполуки Похідні пеніциліну Формула $C_{33}H_{49}O_6$ Формула $C_{33}H_{49}O_6S$ Формула $C_{32}H_{39}O_5$	<i>Mycobacterium</i> <i>phlei</i>	>200/>200/6.25*	Yu та ін., 2019b
				<i>Bacillus subtilis</i>	>200/100/>200*	
				<i>Vibrio parahemolyticus</i>	>200/>200/12.5* * - МІК пеніксиларинів А/В/С	
<i>Aspergillus terreus</i> EN-539 + <i>Paecilomyces lilacinus</i> EN-531	Не наведено	Аспертерреїн	Похідний тереїну Циклоалкан Формула $C_9H_{14}O_2$	<i>Escherichia coli</i>	32	Li та ін., 2020a
				<i>Staphylococcus aureus</i>	32	
<i>Phomopsis</i> sp. K38 + <i>Alternaria</i> sp. E33	Глюкоза, Дріжджовий екстракт, Пептон	Імід (-)-бісохламінова кислота	Похідна нонадридну Алкалоїд Формула $C_{18}H_{21}O_5N$	<i>Fusarium graminearum</i>	50	Ding та ін., 2017
				<i>Fusarium oxysporum</i>	60	
<i>Penicillium bilaiae</i> MA-267 +	Рис, Пептон,	Чермебілен А Чермебілен В	Похідні Меротерпеноїдів Формула	<i>Edwardsiella tarda</i>	0.25	Meng та ін., 2020

<i>Penicillium chermesinum</i> EN-480	Кукурудзяний сироп		$C_{35}H_{56}O_4Na$ $C_{25}H_{40}O_9N$	<i>Ceratobasidium cornigerum</i>	0.5	
Спільне культивування мікроміцетів та бактерій						
<i>Fusarium tricinctum</i> + <i>Bacillus subtilis</i> 168 trpC2	Рисове середовище	Макрокарпон С 2-карбокси-метиламіно-бензойна кислота	Гетероциклічна сполука Формула $C_{13}H_{12}O_4$ Похідне бензойної кислоти Формула $C_9H_9NO_4$	<i>Bacillus subtilis</i> 168 trpC2	8-16	Ola та ін., 2013
				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25697	2-8	
				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	2-8	
				<i>Streptococcus pneumonia</i> ATCC 49619	2-8	
				<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2-8	
				<i>Enterococcus faecalis</i> UW 2689	2-8	
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B 63230	>64 Примітка: макрокарпон С і 2-карбокси-метиламіно-бензойна кислота	

					проявляють однакову антимікробну активність щодо наведених тест-культур	
<i>Trichoderma asperellum</i> GDFS1009 + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ACCC11060	М'ясний екстракт, Пептон	Комплекс BT1 та BT2	Циклопептиди BT1: 4-гідроксибензойна кислота, апігенін, гліцин бетаїн, яблучна і нікотинова кислоти BT2:індол-3-оцтова кислота, індол-3-карбонова кислота, фенациламін, транс-3-кумарова кислота і трансцинамова кислота	<i>Botrytis cinerea</i>	Інгібування росту за дії BT1 47.86 %, за дії BT2 – 66,86 %	Wu та ін., 2018
<i>Pleosporales</i> sp. F46 + <i>Bacillus wiedmannii</i> Com1	Рисове середовище	Не визначено	Стероїдна сполука	<i>Staphylococcus aureus</i>	100	Wang та ін., 2019
<i>Rhinochadiella similis</i> 35 + <i>Streptomyces rochei</i> MB037	Солодовий екстракт, декстроза	Борелідін J Борелідін K	Макроліди Формула C ₂₈ H ₄₅ NO ₇ Формула C ₂₉ H ₄₆ NO ₇	Метицилінрезистентний штам <i>Staphylococcus aureus</i>	0,195 1,563	Yu та ін., 2019a
<i>Fusarium tricinctum</i> +	Не наведено	Фузацитрон A-D	Нафтохінонові димери:	<i>Staphylococcus aureus</i>	всі сполуки проявляють	Moussa та ін., 2019

<i>Streptomyces lividans</i> TK24		Дигідролатеропірон	Фузацитрон А: C ₃₁ H ₂₄ O ₁₆ Фузацитрон В: C ₃₀ H ₂₂ O ₁₆ Фузацитрон С: C ₃₂ H ₂₆ O ₁₆ Фузацитрон D: C ₃₂ H ₂₆ O ₁₆ Похідне латеропінону: C ₁₅ H ₁₂ O ₈	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	антимікробну активність щодо наведених тест- культур, критерії активності не наведено	
<i>Cladosporium</i> sp. WUH1 + <i>Bacillus subtilis</i> CMCC(B) 63,501	Картопляний розчин, декстроза, дріжджовий екстракт, пептон	Тригідрокси- бутиловий ефір 4-карбоксидіорцинолу	Формула C ₄ H ₈ O ₃	<i>Bacillus Subtilis</i>	32	Shi та ін., 2017a
				<i>Escherichia coli</i>	64	
				<i>Staphylococcus aureus</i>	64	
				<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32	
				<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>64	
<i>Penicillium citrinum</i> + <i>Pantoea agglomerans</i>	Картопляний розчин, декстроза, дріжджовий екстракт, пептон	Пулікатин Н Пулікатин F	Похідні сидерофорів Алкалоїд	<i>Penicillium citrinum</i>	25/53*	Thissera та ін., 2020
				<i>Pantoea agglomerans</i>	>200/>200*	
				<i>Aspergillus niger</i>	8.4/22.6*	
				<i>Candida albicans</i>	>50/>50* * МІК пулікатин Н /пулікатин F	

<i>Aspergillus fumigatus</i> + <i>Streptomyces rapamycinicus</i> + <i>Streptomyces iranensis</i> + <i>Streptomyces coelicolor</i> + <i>Streptomyces lividans</i>	Лактоза, Глюкоза, аргінін	Фумігермін	Мікробний α- пірон (полікетид) Формула C ₁₁ H ₁₅ O ₃	<i>Streptomyces coelicolor</i>	1000	Stroe та ін., 2020
				<i>Streptomyces lividans</i>	250	
Спільне культивування бактерій						
<i>Streptomyces endus</i> S-552 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Крохмаль, гліцерин, глюкоза, дріжджовий екстракт	Алхівеміцин А	Полікетид Формула C ₃₅ H ₅₃ NO ₁₀	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	40	Onaka та ін., 2011
				<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2	>50	
				<i>Staphylococcus aureus</i> 209P JC-1	>50	
				<i>Micrococcus luteus</i> TP- B100	0,06	
				<i>Candida albicans</i> TP- F0176	>50	
				<i>Saccharomyces cerevisiae</i> TP-F0176	>50	
<i>Umezawaea</i> sp. RD066910 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Крохмаль, гліцерин, глюкоза, дріжджовий екстракт	Умезавамід А	Формула C ₂₉ H ₄₀ N ₂ O ₆ Поліциклічний тетрамат- макролактам	<i>Candida albicans</i>	зона затримки росту 1,7 мм (5 мкг/диск)	Hoshino та ін., 2018a
<i>Actinosynnema mirum</i> NBRC 14064 +	Крохмаль, гліцерин, глюкоза	Мірілактам С Мірілактам D Мірілактам Е	Моноциклічні полієнові макролактами	<i>Candida albicans</i>	всі сполуки проявляють антимікробну	Hoshino та ін., 2018b

<i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596			Формула $C_{27}H_{37}NO_6$.	<i>Bacillus cereus</i>	активність щодо наведених тест- культур, критерії активності не наведено	
				<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA		
<i>Streptomyces tendae</i> KMC006 + <i>Gordonia</i> sp. KMC005	Солодовий екстракт	Гордонова кислота	Полікетидний глікозид Формула $C_{24}H_{36}NO_6$	<i>Micrococcus luteus</i> KCCM11548	зона затримки росту 2,5 мм (10 мкг/диск)	Park та ін., 2017
				<i>Enterococcus hirae</i> KCCM11768	зона затримки росту 1,5 мм (10 мкг/диск)	
<i>Streptomyces nigrescens</i> HEK616 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Не наведено	Стрептоамінал	Ліпідні [5,5]- спіроге-міамінали Формула $C_{18}H_{34}NO_2$	<i>Bacillus subtilis</i>	зона затримки росту 12 мм (30 мкг/диск)	Sugiyama та ін., 2016
				<i>Escherichia coli</i>	зона затримки росту 10 (100 мкг/диск)	
				<i>Staphylococcus aureus</i>	зона затримки росту 10 (30 мкг/диск)	
<i>Janthinobacterium</i> spp. ZZ145 + <i>Janthinobacterium</i> spp. ZZ148	Рисове середовище	Янтинополієнеміцин А Янтинополієнеміцин В	Полікетиди Формула $C_{26}H_{36}O_3$	<i>Candida albicans</i>	15.6* * сполуки проявляють однакову антимікробну активність щодо тест- культури	Anjum та ін., 2018
<i>Micromonospora</i> sp. WMMB-235 + <i>Rhodococcus</i> sp. WMMA185	Дріжджовий екстракт, солодовий екстракт, декстроза	Кейцин	Нітрогліко- зильований антрациклін Антрахінон Формула	<i>Mycobacterium</i> sp.	критерії активності не наведено	Adnani та ін., 2017
				<i>Rhodococcus</i> sp.		
				<i>Bacillus subtilis</i>	8	

			$C_{75}H_{108}N_4O_{34}$	<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	2	
--	--	--	--------------------------	--------------------------------------	---	--

На рис. 1.1 наведено класи нових антимікробних сполук, синтезованих під час комбінованого культивування мікроорганізмів. Метаболіти на основі спільних культур бактерій та грибів були ідентифіковані як алкалоїди, антрахінони, макроліди, фенілпропаноїди, полікетиди, циклопептиди, терпеноїди, причому основну частку становлять макроліди, алкалоїди, фенілпропаноїди та полікетиди.

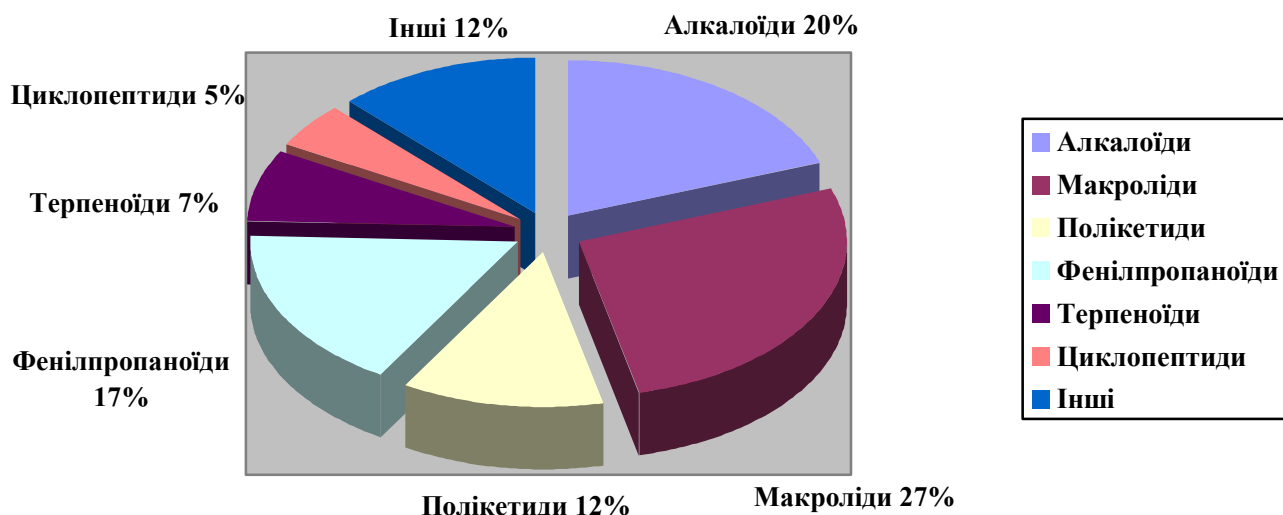


Рис. 1.1 Кількість нових метаболітів з антимікробною активністю, синтезованих у результаті спільного культивування мікроорганізмів (Yu та ін., 2019a; Wu та ін., 2018; Stierle та ін., 2017; Zhu та ін., 2011; Ding та ін., 2017; Yang та ін., 2018; Yu та ін., 2019b; Nonaka та ін., 2011; Li та ін., 2020a; Meng та ін., 2020; Thissera та ін., 2020; Moussa та ін., 2019; Wang та ін., 2019; Stroe та ін., 2020; Ola та ін., 2013; Shi та ін., 2017a; Anjum та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018a; Hoshino та ін., 2018b; Adnani та ін., 2017; Sugiyama та ін., 2016; Onaka та ін., 2011; Park та ін., 2017).

Антимікробні сполуки, такі як фенілпропаноїди та терпеноїди були ідентифіковані тільки на основі спільних культур грибів. В той час, як метаболіти, охарактеризовані як алкалоїди синтезувалися у результаті спільного культивування як бактеріальних, так і грибних культур.

1.1.2 Метаболіти з цитотоксичною та антимікробною активністю

Дослідження, присвячені спільному культивуванню мікроорганізмів, опубліковані за останні 5–7 років, повідомляють про синтез нових алкалоїдних сполук (Afiyatulloev та ін., 2018; Bao та ін., 2017; El-Hawary та ін., 2018; Frank та ін., 2019;

Kamdem та ін., 2018; Maglangit та ін., 2020; Dashti та ін., 2014), фенілпропаноїдів (Zhang та ін., 2018; Abdel-Wahab та ін., 2019b), макролідів (Stierle та ін., 2017), полікетидів (Zhang та ін., 2017b; Hoshino та ін., 2015), циклопептидів (Pettit та ін., 2010; Abdel-Wahab та ін., 2019b; Shin та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018c), терпеноїдів (Li та ін., 2020b) та сполук інших груп (Stierle та ін., 2017; Li та ін., 2020b; Zhuravleva та ін., 2016; Knowles та ін., 2020; Abdel-Wahab та ін., 2019b; El-Hawary та ін., 2018; Frank та ін., 2019).

Слід зазначити, що деякі нові метаболіти проявляють як цитотоксичну, так і антимікробну активність (Stierle та ін., 2017; Pettit та ін., 2010; Abdel-Wahab та ін., 2019b; Maglangit та ін., 2020; Dashti та ін., 2014), тоді як інші – лише цитотоксичну активність (Afiyatulloev та ін., 2018; Bao та ін., 2017; Li та ін., 2020b; Zhang та ін., 2017b; Zhuravleva та ін., 2016; Knowles та ін., 2020; El-Hawary та ін., 2018; Zhang та ін., 2018; Abdel-Wahab та ін., 2019b; Shin та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018c; Hoshino та ін., 2015).

Синтез нових метаболітів із як цитотоксичною, так і антимікробною активністю спостерігався під час ко-культивування мікроміцет-мікроміцет (Stierle та ін., 2017; Afiyatulloev та ін., 2018; Bao та ін., 2017; Li та ін., 2020b; Zhang та ін., 2017b; Pettit та ін., 2010; Zhuravleva та ін., 2016; Knowles та ін., 2020), бактерія-бактерія (Maglangit та ін., 2020; Dashti та ін., 2014; Shin та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018c; Hoshino та ін., 2015) та мікроміцет -бактерія (El-Hawary та ін., 2018; Zhang та ін., 2018; Abdel-Wahab та ін., 2019b; Frank та ін., 2019; Kamdem та ін., 2018).

Спільне культивування мікроміцетів

Зі спільної культури *Aspergillus sulphureus* КММ 4640 і *Isaria felina* КММ 4639 були виділені п'ять нових пренільованих індольних алкалоїдів: 17-гідроксинотоамід D, 17-О-етилнотамід M, 10-О-ацетилсклеротіамід, 10-О-етилсклеротіамід і 10-О-етилнотамід R (Afiyatulloev та ін., 2018). Сполука 17-О-етилнотамід M інгібувала утворення колоній клітин раку простати людини 22Rv1 при концентрації 10 мкМ.

Перший природний 1,2,4-оксадіазин-6-он (склероціорумін C) та алюмінійнеогідроксіаспергілін виділені зі спільної культури грибів *Aspergillus sclerotiorum* і *Penicillium citrinum* (Bao та ін., 2017). Алюмінійнеогідроксіаспергілін

проявив високу цитотоксичність щодо лінії клітин гістіоцитарної лімфоми людини U937 ($IC_{50} = 4,2$ мкМ).

Серед новосинтезованих макролідів після спільного культивування *Penicillium fuscum* (Sopp) Raper & Thom та *Penicillium camembertii/clavigerum* Thom виявлені нові сполуки: беркелейлактон А, С, F та A26771B (Stierle та ін., 2017). Сполуки виявляли цитотоксичну активність проти клітин лейкемії лінії K-562, RPMI-8226, CCRF-CEM зі значеннями IC_{50} 10 мкМ та спричиняли інгібування клітин у межах 38–85%.

Вісім нових сполук було виділено під час спільного культивування *Armillaria* sp. з *Epicoccum* sp. YUD 17002, включаючи п'ять сесквітерпенів протоілуданового типу і три арилові ефіри (Li та ін., 2020b). Сесквітерпеноїд показав помірну цитотоксичність проти п'яти ліній клітин пухлини людини (HL-60, A549, MCF-7, SMMC-7721, SW480) зі значеннями IC_{50} в діапазоні від 15,80 до 23,03 мкМ (Li та ін., 2020b).

Більш високу активність щодо ліній пухлинних клітин людини проявили новосинтезовані полікетиди, зокрема, нафуредин В, ідентифікований зі спільної культури *Talaromyces aculeatus* і *Penicillium variable* (Zhang та ін., 2017b). Нафуредин В продемонстрував потужну цитотоксичність проти ліній пухлинних клітин людини, включаючи HeLa, K562, HCT-116, HL-60, A549 і MCF-7 зі значеннями IC_{50} в межах 1,2–9,8 мкМ, відповідно.

У той же час новому циклопептиду, латеритину, ідентифікованому після спільного культивування *Ovadendron sulphureoochraceum* MIC 5759, *Ascochyta pisi* MIC 5620, *Emericellopsis minima* MIC 5835, *Cylindrocarpon destructans* MIC 5638, *Fusarium oxysporum* MIC 5789, була притаманна цитотоксична активність щодо клітинних ліній пухлин людини (BXPC-3, MCF-7, CNS SF268, NSC H460, KM20L2 та DU-145) – від 1,7 до 2,0 мкг/мл (Pettit та ін., 2010). Окрім клітинних ліній пухлин людини, сполука інгібувала клітини лейкозу миші P388 (IC_{50} в межах 1,8 мкг/мл).

Висока цитотоксична активність притаманна сполуці діорцинолу J, синтезованій у результаті спільного культивування *Aspergillus sulphureus* KMM 4640 і *Isaria felina* KMM 4639 (Zhuravleva та ін., 2016). Показник IC_{50} для клітин карциноми

Ерліха мишей становив 37,6 мкМ. Встановлено, що діорцинол J здатний впливати на експресію білка теплового шоку Hsp70 у клітинах асцитної карциноми Ерліха. Як відомо, білок теплового шоку 70 (Hsp70) часто надмірно експресується в клітинних лініях пухлин і відіграє значну роль у повторному згортанні білків, сприяючи виживанню клітин під стресом. Таким чином, сполуки, які можуть інгібувати Hsp70, мають великий потенціал у лікуванні пухлин (Zhuravleva та ін., 2016).

Під час спільного культивування *Aspergillus fischeri* NRRL 181 та *Xylaria flabelliformis* G536 утворювалася нова сполука уелдон (Knowles та ін., 2020), яка характеризувалася цитотоксичною активністю щодо ракових клітин грудної залози MDA-MB-231, клітин раку яєчників OVCAR-3, клітин раку меланоми людини MDA-MB-435: IC₅₀ становили 7,6, 3,8 та 2,4 мкМ, відповідно.

Спільне культивування мікроміцетів і бактерій

У результаті спільного культивування *Saccharomonospora* sp. UR22 та *Dietzia* sp. UR66 отримано нову сполуку сахаромоноспорин А з цитотоксичною активністю щодо аденокарциноми товстої кишки людини HT-29 та промієлоцитарного лейкозу людини HL-60: IC₅₀ становив 3,6 і 2,8 мкМ, відповідно (El-Hawary та ін., 2018).

Під час спільного культивування *Trichoderma* sp. 307 і *Acinetobacter johnsonii* B2 синтезувалися один новий депсидон, ботріородін Н разом з трьома аналогами (ботріородіни С, D і G) (Zhang та ін., 2018). Ботріородіни Н, С, D продемонстрували інгібуючу активність щодо α -глюкозидази в діапазоні від 8,1 до 11,2 мкМ, а ботріородін Н виявив потужну цитотоксичну дію проти клітинних ліній пролактиноми щурів MMQ і аденоми гіпофіза щурів GH3 (IC₅₀ = 3,09 і 3,64 мкМ, відповідно).

У процесі спільного культивування *Aspergillus versicolor* та *Bacillus subtilis* спостерігали синтез циклічного пентапептиду коттеслозину С, афахінолону, 22-епі-афахінолону В, двох антрахінонів, ізоверсікологіну В та О-деметилстеригматоцистину, стеригматоцистину, стеригматину (Abdel-Wahab та ін., 2019b). О-деметилстеригматоцистин, стеригматоцистин, стеригматин пригнічували клітинні лінії лімфоми щурів L5178Y (IC₅₀ = 2,2–5,8 мкМ).

Нові сполуки, охраспергілові кислоти А і В, а також відомі віомеллеїн та охратоксин В отримано зі спільної культури *Aspergillus ochraceus* та *Bacillus subtilis* (Frank та ін., 2019). Віомеллеїну та охратоксину В притаманна висока цитотоксична активність щодо клітин карциноми яєчників людини А2780 з IC_{50} на рівні 5,0 і 3,0 мкМ, відповідно.

У результаті спільного культивування *Bionectria* sp. та *Streptomyces lividans* ТК24 отримано новий алкалоїд, 1,2-дигідрофенопірозин, разом із п'ятьма відомими сполуками, серед яких пеніколінат А. Пеніколінат А виявляв потужну цитотоксичну активність проти лінії клітин раку яєчників людини А2780 з IC_{50} зі значеннями 4,1 мкМ (Kamdem та ін., 2018).

Спільне культивування бактерій

Упродовж останніх років як результат спільного культивування бактерій було виявлено дві нові алкалоїдні сполуки з цитотоксичною активністю (Maglangit та ін., 2020; Dashti та ін., 2014). Однією з таких сполук є алкалоїд ВЕ-13793С, синтезований при спільному культивуванні *Streptomyces* sp. МА37 та *Pseudomonas* sp. (Maglangit та ін., 2020). ВЕ-13793С продемонстрував сильну антипроліферативну активність проти клітин карциноми товстої кишки людини НТ-29 (АТСС НТВ-38), IC_{50} становив 3,16 мкМ, але не спричиняв токсичного впливу на нормальні легеневі клітини (АТСС CCL-171).

Під час культивування *Actinokineospora* sp. EG49 з *Nocardiopsis* sp. RV163 синтезувався 1,6-дигідроксифеназин, який, окрім цитотоксичної активності (IC_{50} проти паразитів людини *Trypanosoma brucei* ТС 221 19 мкМ), проявляв також і антимікробну активність (зони інгібування росту *Bacillus* sp. Р25, *Actinokineospora* sp. EG49 становили 11–15 мм) (Dashti та ін., 2014).

Ефективною протираковою сполукою є новий циклічний пептид, дентигеруміцин Е, синтезований у результаті спільного культивування *Streptomyces* sp. JB5 і *Bacillus* sp. GN1 (Shin та ін., 2018). Експерименти показали, що дентигеруміцину Е притаманний антиметастатичний потенціал проти клітин раку. Так, IC_{50} проти ліній ракових клітин А549 (рак легенів), НСТ116 (колоректальний

рак), MDA-MB-231 (рак молочної залози), SK-HEP-1 (рак печінки) і SNU638 (рак шлунка) перебував у діапазоні 27–39 мкМ.

Два нових ізомери гетероциклічних пептидів (катенулобактини А і В) синтезувалися у процесі комбінованого культивування *Catenuloplanes* sp. RD067331 з *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596 (Hoshino та ін., 2018с). Катенулобактин В виявляв Fe(III)-хелатну активність і помірну цитотоксичність проти клітин мишачої лейкемії P388 ($IC_{50} = 22,4$ мкМ).

Новим метаболітам (хоялактони А та В), ідентифікованим після спільного культивування *Streptomyces* sp. CJ5 та *Tsukamurella pulmonis* TP-B0596, також була притаманна цитотоксична активність щодо клітин мишачої лейкемії P388 (Hoshino та ін., 2015). Так, IC_{50} стереоізомерів хоялактону А становив 28–37 мкМ, а стереоізомерів хоялактону В — 17–18 мкМ.

У Табл. 1.2 наведено узагальнені дані щодо синтезу нових метаболітів з антимікробною та цитотоксичною активністю у процесі спільного культивування грибів, бактерій, а також грибів із бактеріями. Ці дані свідчать, що найбільшу кількість нових метаболітів з потужною цитотоксичною активністю ідентифіковано в результаті комбінованого культивування грибів.

Таблиця 1.2

Характеристика нових сполук з антимікробною та цитотоксичною активністю, утворених в результаті комбінованого культивування мікроорганізмів

Культури	Субстрат	Сполука	Цитотоксична та протипухлинна активність	Тест-культури для визначення антимікробної активності	Мінімальна інгібуюча концентрація, мкг/мл	Літера-тура
Спільне культивування мікроміцетів						
<i>Ovadendron sulphureoochraceum</i> MIC 5759 + <i>Ascochyta pisi</i> MIC 5620 + <i>Emericellopsis minima</i> MIC 5835 + <i>Cylindrocarpon destructans</i> MIC 5638 + <i>Fusarium oxysporum</i> MIC 5789	Солодовий екстракт, Мальтоза, Декстроза, Дріжджовий автолізат	Латеритин N-метильований пептид	IC ₅₀ для клітин лейкозу миші P388 1,8 мкг/мл, шести клітинних ліній пухлин людини (підшлункова залоза ВХРС-3, молочна залоза MCF-7, CNS SF268, легені-NSC H460, товста кишка KM20L2 та простата DU-145) – від 1,7 до 2,0 мкг/мл.	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	4-8	Pettit та ін., 2010
				<i>Micrococcus luteus</i> Presque Isle 456	2-4	
				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	4-8	
				<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	8	
				<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	8-16	
		Берkeleyлактон А	IC ₅₀ для клітин лейкемії лінії K-562 становив 10 мкМ, спричиняв	<i>Staphylococcus aureus</i> 13709	1/3/6/19	

<i>Penicillium fuscum</i> (Sopp) Raper & Thom + <i>Penicillium camembertii/clavigerum</i> Thom	Картопляно-декстрозне середовище	Моноциклічний макролід Формула $C_{19}H_{32}O_7S$	інгібування (85%) і летальність (2,4 %) клітин	<i>Streptococcus pyogene</i>	3/48/26/150	Stierle та ін., 2017
		Берkeleyлактон A26771B макролід Формула $C_{20}H_{30}O_7$	IC ₅₀ для клітин лейкемії лінії RPMI-8226 становив 10 мкМ, спричиняв інгібування (48%) клітин	<i>Candida glabrata</i>	6/48/26/>300	
		Берkeleyлактон С Макролід Формула $C_{20}H_{30}O_8$	IC ₅₀ для клітин лейкемії лінії CCRF-CEM становив 10 мкМ, спричиняв інгібування (48%) клітин, а також інгібування (46 %) клітин лейкемії лінії K-562	<i>Bacillus subtilis</i>	13/12/ 26/>300	
		Берkeleyлактон F Макролід Формула $C_{16}H_{28}O_5$	IC ₅₀ для клітин лейкемії лінії CCRF-CEM становив 10 мкМ, спричиняв інгібування (38%) клітин	<i>Candida albicans</i>	26/96/ 50/>300	
				<i>Bacillus anthracis</i>	3/6/6/75 *МІК берkeleyлактону А/ A26771B/ берkeleyлактону С/ берkeleyлактону F	
<i>Aspergillus fischeri</i> NRRL 181 + <i>Xylaria flabelliformis</i> G536	Вівсяне середовище	Уелдон Формула $C_{25}H_{34}O_6$	IC ₅₀ для ракових клітин грудної залози MDA-MB-231, клітин раку яєчників OVCAR-3, клітин раку меланоми людини MDA-MB- 435 становили 7.6, 3.8 та 2.4 мкМ, відповідно.	Анти-мікробних властивостей не проявляє		Knowles та ін., 2020
<i>Aspergillus sulphureus</i> KMM4640 + <i>Isaria felina</i> KMM4639	Рисове середовище	Діорцинол J Дифеніловий ефір Формула $C_{19}H_{22}O_4$	IC ₅₀ для клітин карциноми Ерліха мишей становив 37.6 мкМ	Анти-мікробних властивостей не проявляє		Zhuravleva та ін., 2016
<i>Aspergillus sulphureus</i>	Рисове середовище	17-О-етілнотоамід М	IC ₅₀ для клітин раку простати людини 22Rv1 становив 10 мкМ	Анти-мікробних		Afiyatu llov та

KMM4640 + <i>Isaria felina</i> KMM4639		Алкалоїд Формула $C_{28}H_{35}N_3O_5$		властивостей не проявляє		ін., 2018
<i>Epicoccum</i> sp. YUD 17002 + <i>Armillaria</i> sp.	Картопля- но- декстроз-не середовище	Арміліфатік А Сесквітерпеноїд Формула $C_{23}H_{28}O_5Cl$	IC ₅₀ для п'яти ліній ракових клітин людини (HL-60, A549, MCF-7, SMMC-7721, SW480) перебував у межах 15.8 – 23.03 мкМ	Анти- мікробних властивостей не проявляє		Li та ін., 2020b
<i>Talaromyces aculeatus</i> + <i>Penicillium variable</i>	Мальтозне середовище	Пеніталарини А– С Полікетид Нафуредин В Полікетид Формула $C_{22}H_{32}O_3Na$	IC ₅₀ для шести ліній ракових клітин людини (HeLa, K562, НСТ-116, HL-6,0 A549, MCF-7) перебували в діапазоні 1.2 – 9.8 мкМ	Анти- мікробних властивостей не проявляє		Zhang & Zhang, 2017b
<i>Aspergillus sclerotiorum</i> SCSGAF 0053 + <i>Penicillium citrinum</i> SCSGAF 0052	Крохмаль, Глюкоза, Пептон	Склероціорумін А Алкалоїд Формула $C_{14}H_{14}O_5$ Алюмінійнео- гідрокси- аспергілін Формула $C_{36}H_{57}AlN_6O_9$	IC ₅₀ для лінії клітин гістіоцитарної лімфоми людини U937 становив 4.2 мкМ	Анти- мікробних властивостей не проявляє		Bao та ін., 2017
Спільне культивування бактерій						
<i>Actinokineospora</i> sp. EG49 +	Солодово- дріжджове середовище	1,6-Дигідрок- сифеназин Алкалоїд	IC ₅₀ для паразитів людини <i>Trypanosoma brucei</i> TC 221 становив 19 мкМ	<i>Bacillus</i> sp. P25	зона затримки росту 11 мм (10 мкг/диск)	Dashti та ін., 2014

<i>Nocardiosis</i> sp. RV163				<i>Actinokineo- spora</i> sp. EG49	зона затримки росту 15 мм (10 мкг/диск)	
<i>Streptomyces</i> sp. CJ5 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Не наведено	Хоялактон А Містить 2- гідрокси-3- метил-γ- бутиролактонови й фрагмент Хоялактон В Містить 2- гідрокси-3- метил-γ- бутиролактон	IC ₅₀ для клітин мишачого лейкозу P338 двох стереоізомерів хоялактону А становив 37 та 28 мкМ IC ₅₀ для клітин мишачого лейкозу P338 двох стереоізомерів хоялактону В становив 18 і 17 мкМ	Анти- мікробних властивостей не проявляють		Hoshin o та ін., 2015
<i>Streptomyces</i> sp. MA37 + <i>Pseudomonas</i> sp.	Дріжджо- вий екстракт, солодовий екстракт, глюкоза	Індол- карбазоловий алкалоїд ВЕ- 13793С Формула C ₂₀ H ₁₁ N ₃ O ₂	IC ₅₀ для клітин карциноми товстої кишки людини HT-29 (ATCC HTB-38) становив 3.16 мкМ	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29,212	>140	Maglan git та ін., 2020
				<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25,923	>140	
				<i>Streptococcus B.</i> ATCC 12,386	>140	
				<i>Escherichia coli</i> ATCC 25,922	>140	

				<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27,853	>140	
<i>Streptomyces</i> sp. JB5 + <i>Bacillus</i> sp. GN1	Дріжджовий екстракт, солодовий екстракт, глюкоза	Дентигеруміцин Е циклічний пептид Формула $C_{39}H_{63}N_9O_{16}$	IC ₅₀ для ліній ракових клітин, A549 (рак легенів), HCT116 (колоректальний рак), MDA-MB-231 (рак молочної залози), SK-HEP-1 (рак печінки) і SNU638 (рак шлунка) становив 38, 28, 28, 27, 39 мкМ, відповідно.	Анти-мікробних властивостей не проявляють		Shin та ін., 2018
<i>Catenuloplanes</i> sp. RD067331 + <i>Tsukamurella pulmonis</i> TP-B0596	Крохмаль, Соєве борошно, Дріжджовий екстракт	Катенуло-бактин А Гетеро-циклічний Пептид Формула $C_{27}H_{31}N_4O_9$ Катенуло-бактин В Формула $C_{27}H_{31}N_4O_9$	IC ₅₀ для клітин мишачої лейкемії P388 становив 22.4 мкМ	Анти-мікробних властивостей не проявляють		Hoshino та ін., 2018c
Спільне культивування мікроміцетів та бактерій						
<i>Dietzia</i> sp. UR66 + <i>Saccharomonospora</i> sp. UR22	Солодовий екстракт, декстроза, дріжджовий екстракт	Сахаромоноспорин А Бромований оксоіндольний алкалоїд Формула $C_{19}H_{15}O_2N_2Br$	Антипроліферативна активність щодо аденокарциноми товстої кишки людини HT-29 та промієлоцитарного лейкозу людини HL-60 (IC ₅₀ становив 3,6 і 2,8 мкМ відповідно).	Анти-мікробних властивостей не проявляють		El-Hawary та ін., 2018

<i>Trichoderma</i> sp. 307 + <i>Acinetobacter johnsonii</i> B2	Солодовий екстракт, декстроза, дріжджовий екстракт	Ботріородін Н Депсидон Фенілпропаноїд Формула $C_{22}H_{18}O_6$	IC ₅₀ для клітинних ліній MMQ пролактиноми щурів і аденоми гіпофіза щурів GH3 становив 3.09 і 3.64 мкМ відповідно	Анти-мікробних властивостей не проявляють		Zhang та ін., 2018
<i>Aspergillus versicolor</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	Рисове середовище	Котеслозин С Циклопептид 22-епі-афлахінолон В Фенілпропаноїд Версиколорін В Антрахінони 6,8-О-диметилбіполяри н Антрахінони Діорцинол Д Діорцинол Г Діорцинол І	IC ₅₀ для клітинних ліній лімфоми щурів L5178Y становив 5.8, 2.2, 2.3 мкМ для О-деметилстеригматоцистину/Стеригматоцистину/Стеригматину, відповідно	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	25/12.5/50*	Abdel-Wahab та ін., 2019b
				<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	50/12.5/50*	
				<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	50/12.5/50*	
				<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 35667	12.5/12.5/25* *МІК Діорцинолу Д/ Діорцинолу Г/ Діорцинолу І	
<i>Aspergillus ochraceus</i> + <i>Bacillus subtilis</i>	Рисове середовище	Охраспергілові кислоти А, В Біомеллеїн Охратоксин В	IC ₅₀ для клітин карциноми яєчників людини A2780 становив 5.0 і 3.0 мкМ для віомеллеїну та охратоксину В, відповідно	Анти-мікробних властивостей не проявляють		Frank та ін., 2019
<i>Bionectria</i> sp. +	Рисове середовище	1,2-дигідрофенопірозин (Алкалоїд)	IC ₅₀ пеніколінату А для лінії клітин раку яєчників людини A2780 4.1 мкМ	Анти-мікробних властивостей		Kamdem та

<i>Streptomyces lividans</i> TK24		Формула $C_{13}H_{16}NO_2$ Пеніколінат А (Стероїд) Формула $C_{24}H_{32}O_4N_2$		не проявляють		ін., 2018
--------------------------------------	--	--	--	------------------	--	--------------

На рис. 1.2 наведено класи нових метаболітів з протипухлинною активністю, синтезованих під час комбінованого культивування мікроорганізмів. Метаболіти на основі спільних культур бактерій та грибів були ідентифіковані як алкалоїди, циклопептиди, фенілпропаноїди, полікетиди, макроліди, стероїди, терпеноїди, антрахінони, причому основну частку становлять алкалоїди, циклопептиди та полікетиди.



Рис. 1.2 Кількість нових метаболітів з цитотоксичною активністю, синтезованих у результаті спільного культивування мікроорганізмів (Stierle та ін., 2017; Afiyatulloev та ін., 2018; Bao та ін., 2017; Li та ін., 2020b; Zhang та ін., 2017b; Pettit та ін., 2010; Zhuravleva та ін., 2016; Knowles та ін., 2020; El-Hawary та ін., 2018; Zhang та ін., 2018; Abdel-Wahab та ін., 2019b; Frank та ін., 2019; Kamdem та ін., 2018; Maglangit та ін., 2020; Dashti та ін., 2014; Shin та ін., 2018; Hoshino та ін., 2018c; Hoshino та ін., 2015).

У результаті спільного культивування мікроорганізмів було отримано значну кількість нових біологічно активних вторинних метаболітів. Зокрема, ідентифіковано 77 нових метаболітів, які не характерні для монокультур (див. *Таблиці 1.1, 1.2*). Унаслідок спільного культивування грибів було виділено 29 сполук; 31 сполуку отримано в результаті ко-культивування грибів і бактерій, а загалом 17 сполук ідентифіковано після ко-культивування бактерій. Найбільшу групу (41% від усіх метаболітів) становлять сполуки, ідентифіковані після спільного культивування грибів і бактерій. Найбільше нових метаболітів належить до алкалоїдів ($\geq 42\%$), тоді

як найменше (<3%) — до стероїдів. Більшість нових сполук з різною хімічною структурою було отримано в результаті ко-культивування грибів роду *Aspergillus* spp. та *Penicillium* spp. з різними штамами бактерій.

Синтез більшості нових сполук ґрунтується на захисному механізмі, що призводить до активації "мовчазних" генів, відповідальних за їх біосинтез. Водночас неможливо передбачити, які саме кластери біосинтетичних генів експресуватимуться або які типи молекул будуть синтезовані під час спільного культивування мікроорганізмів.

Методи спільного культивування грибів і бактерій, розглянуті в цьому огляді, безумовно, обмежують різноманіття нових синтезованих сполук. Отже, перспективним напрямом майбутніх досліджень може бути збільшення різноманіття використовуваних мікроорганізмів, наприклад, шляхом залучення амеб або фагів для спільного культивування. Крім того, для розуміння складної регуляції вторинного метаболізму та визначення можливостей генетичної інженерії для індукції або посилення синтезу цільових вторинних метаболітів необхідно встановити всі механізми, що забезпечують утворення нових сполук у процесі спільного культивування мікроорганізмів.

1.2 Вплив біологічних індукторів на синтез та біологічну активність мікробних метаболітів

У нашій попередній публікації (Pirog & Ivanov, 2023) було зазначено, що зростання антибіотикорезистентності патогенних мікроорганізмів упродовж останніх десятиліть спонукало наукову спільноту до пошуку нових екологічно безпечних антимікробних метаболітів природного походження зі стабільними властивостями. Одним зі способів вирішення цієї проблеми є стратегія ко-культивування мікроорганізмів, при якій продуцент практично цінних метаболітів культивується разом із конкурентними мікроорганізмами. Це вважається ефективною стратегією для індукції утворення мікроорганізмами вторинних метаболітів із підвищеною антимікробною активністю або/та стимуляції продукції біологічно активних вторинних метаболітів, які неможливо отримати у відповідній чистій культурі (Pirog & Ivanov, 2023; Wakefield та ін., 2017).

Дослідження впливу конкурентних мікроорганізмів на синтез антимікробних сполук можна поділити на три категорії:

1) обидва штами (продуцент та конкурентний мікроорганізм) вводяться у живильне середовище продуцента антимікробних метаболітів у співвідношенні 1:1, тобто майже в однаковій концентрації (Wakefield та ін., 2017; Peng та ін., 2021);

2) живі або інактивовані індукторні клітини додаються у середовище у значно нижчій концентрації порівняно з клітинами кінцевого продуцента метаболітів (Fouad & Khalid, 2016; Stincone та ін., 2020; Leães та ін., 2016; Ramchandran та ін., 2020; Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Huy & Nguyen, 2014; Luti & Yonis, 2013; Liang та ін., 2020; El-Sherbiny та ін., 2017; Xiaomeng та ін., 2021; Ancheeva та ін., 2017; Ge та ін., 2014; Aida & Marwa, 2020; Wang та ін., 2021; Sh та ін., 2019; Sharma та ін., 2017; Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013; Whitt та ін., 2014);

3) супернатант (фільтрат) після культивування конкурентного мікроорганізму використовується як індуктор (Fouad & Khalid, 2016; Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013; Thu та ін., 2021; Liu та ін., 2022; Shen та ін., 2020; Wang та ін., 2017; Shi та ін., 2017b; Mohammadiparah та ін., 2020).

Для кожної з трьох зазначених категорій експериментів використовується відповідна термінологія. Перша категорія — це класичне культивування двох мікроорганізмів у спільному середовищі, культивування штучних мікробних асоціацій (консорціумів). Конкурентні мікроорганізми (або їхні супернатанти), що використовуються у другій та третій категоріях, називаються індукторами або еліціторами.

1.2.1 Інактивовані клітини

У літературі міститься інформація про вплив термічно інактивованих індукторів на синтез і властивості бактеріоцинів (Fouad & Khalid, 2016), мікробних сурфактантів (Stincone та ін., 2020; Leães та ін., 2016; Ramchandran та ін., 2020), пігментів (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Huy & Nguyen, 2014), антибіотиків (Luti & Yonis, 2013) та інших вторинних метаболітів (Liang та ін., 2020; El-Sherbiny та ін., 2017; Xiaomeng та ін., 2021; Ancheeva та ін., 2017).

Бактеріоцини. У дослідженні (Fouad & Khalid, 2016) встановлено, що введення термічно інактивованих клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 43090 (2 та 3 %) або клітин *Bacillus* sp. (3 %) у поживне середовище продуцента бактеріоцинів *Bacillus subtilis* NK16 супроводжувалося 2-4-кратним підвищенням синтезу кінцевого продукту порівняно з контрольним значенням для штаму NK16. Вчені припустили, що одним із механізмів збільшення синтезу бактеріоцинів може бути розпізнавання певних білків або рецепторів на поверхні фрагментів інактивованих індукторних клітин і реалізація захисного механізму проти конкурентного мікроорганізму. Цю гіпотезу підтверджували результати визначення антимікробної активності синтезованих бактеріоцинів проти індукторних клітин (*S. aureus* ATCC 43090, *Bacillus* sp.): зона затримки росту становила 25 та 23 мм відповідно. Водночас без додавання індукторних клітин зона затримки росту коливалася від 5 до 15 мм після обробки отриманими бактеріоцинами.

Мікробні поверхнево-активні речовини. Дослідники встановили (Stincone та ін., 2020), що введення інактивованих клітин *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 або *Aspergillus niger* IFL5 у культуру *Bacillus* sp. P34 спричинило підвищення синтезу антимікробного ліпопептиду ітуруину А більш ніж у 2 рази порівняно з контрольним рівнем для штаму P34, проте практично не вплинуло на синтез фенгіцинів А та В. Цікавим фактом було те, що, незважаючи на підвищений синтез ліпопептидів, їхня антимікробна активність була вдвічі нижчою, ніж у тих, що синтезувалися в середовищі без індуктора.

У роботі (Leães та ін., 2016) повідомляється, що синтез ітуруину А штамом *Bacillus amyloliquefaciens* P11 підвищувався у 0.5 та 3 рази за наявності термічно інактивованих клітин *S. aureus* ATCC 25923 або *Aspergillus parasiticus* (номер штаму не вказано) відповідно. Крім того, введення індукторів у середовище культивування *B. amyloliquefaciens* P11 супроводжувалося синтезом нових сполук, не характерних для продуцента, зокрема субтилозину А та фенгіцину. Однак дослідники не вказали їхніх концентрацій.

При додаванні інактивованих клітин дріжджів *Candida albicans* SC 5314 у культуру *B. subtilis* RLID 12.1 було зафіксовано 3-4-кратне збільшення концентрації

циклічних ліпопептидів AF3 та AF5 (Ramchandran та ін., 2020). Ці сполуки характеризувалися високою протигрибковою активністю проти дріжджів *Candida auris*, з мінімальними інгібуючими концентраціями (МІК) у діапазоні 4-16 мкг/мл.

Пігменти. Вплив інактивованих прокаріотичних та дріжджових індукторів на синтез антимікробного пігменту продигіозину актинобактеріями роду *Streptomyces* та бактеріями роду *Serratia* був досліджений кількома авторами (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Huy & Nguyen, 2014).

Наприклад, дослідники (Mahmoud та ін., 2015) встановили, що присутність інактивованих клітин *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* або *Saccharomyces cerevisiae* (2-3 %) у поживному середовищі *Serratia marcescens* S23 супроводжувалася 7-9-кратним підвищенням продукції цього пігменту порівняно з контрольними значеннями для штаму S23. При цьому концентрація продигіозину не залежала від природи індуктора (про- чи еукаріотичний). Автори припустили, що одним із механізмів індукції є безпосередній контакт між клітинами-продуцентами та клітинами-індукторами, оскільки вони не знайшли підтверджень участі певних сигнальних молекул у цьому процесі.

Автори дослідження (Luti та ін., 2018) продемонстрували 30-100 % підвищення концентрації синтезу продигіозину *S. marcescens* (номер штаму не вказано) за наявності відповідних індукторів (*E. coli*, *B. subtilis* або *S. cerevisiae*). Однак, порівняно з результатами, описаними в роботі (Mahmoud та ін., 2015), максимальна індукція синтезу продигіозину спостерігалася за наявності бактеріальних індукторів.

Дослідники (Huy & Nguyen, 2014) встановили, що введення термічно інактивованих клітин *Lactobacillus rhamnosus* LGG (0.5-1 %) у живильне середовище актинобактерій *Streptomyces coelicolor* (номер штаму не вказано) супроводжувалося збільшенням синтезу продигіозину до 9.8 мг/л, що в 7 разів вище порівняно з умовами без індуктора. Автори висунули гіпотезу, що продукти лізису молочнокислих бактерій можуть виступати попередниками у синтезі кінцевого продукту. Варто зазначити, що здатність *S. coelicolor* до синтезу продигіозину значно нижча, ніж у *S. marcescens* (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018).

Антибіотики. Автори дослідження (Luti & Yonis, 2013) змогли значно підвищити синтез антибіотика феназину *Pseudomonas aeruginosa* (номер штаму не вказано) на 43-300 % шляхом додавання термічно інактивованих клітин *E. coli*, *B. subtilis* та *S. cerevisiae* у середовище. Найефективнішим індуктором виявилися дріжджові клітини *S. cerevisiae*, у присутності яких концентрація феназину зросла до 30 мг/л. Визначення антимікробної активності феназину проти індукторних клітин показало, що зони затримки росту *E. coli*, *B. subtilis* та *S. cerevisiae* становили 1.6, 2.9 та 4.3 мм відповідно.

Інші вторинні метаболіти. Під час культивування *Streptomyces* sp. RKND-216 у присутності інактивованих клітин *Alteromonas* sp. RKMC-009 або *Mycobacterium smegmatis* ATCC 120515 було виявлено утворення двох нових алкалоїдів: N-карбамоїл-2-гідрокси-3-метоксибензаміду та карбазохіноцину G (Liang та ін., 2020). Отримані метаболіти не проявляли антимікробної активності, проте карбазохіноцин G характеризувався цитотоксичною активністю проти клітинних ліній раку молочної залози MCF7 та HTB26 (IC_{50} становило 3.07 та 3.67 мкМ відповідно).

У роботі (El-Sherbiny та ін., 2017) було встановлено, що введення термічно інактивованих клітин *S. aureus* у культуру *Streptomyces* sp. MH-133 супроводжувалося синтезом комплексу невизначених антибактеріальних метаболітів, які інгібували ріст *S. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* (зони затримки росту становили 24, 22, 24 та 16 мм відповідно).

У дослідженнях (Xiaomeng та ін., 2021; Ancheeva та ін., 2017) повідомляється про вплив термічно інактивованих індукторів на утворення антимікробних метаболітів мікроміцетами. Шість нових 16-амінокислотних пептаїболів (акремопептиболіди А–F) були отримані з культури мікроміцета *Acremonium* sp. IMB18-086, культивованого у присутності автоклавованих клітин *Pseudomonas aeruginosa* (Xiaomeng та ін., 2021). Акремопептиболіди А та F проявили антимікробну активність проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *Candida albicans*; зони затримки росту становили 15, 16, 10 та 12 мм відповідно.

Інші дослідження (Ancheeva та ін., 2017) показали, що введення автоклавованих клітин *P. aeruginosa* у культуру *Chaetomium* sp. призвело до утворення чотирьох нових

похідних бутеноліду, а також двох аналогів шикимової кислоти (хетоізохоризмін, шикимеран В), які не були виявлені ані у культурі мікроміцета, ані у культурі індуктора.

У таблиці 1.3 узагальнено дані про вплив термічно інактивованих індукторів на утворення та антимікробну активність вторинних метаболітів. Отримані результати свідчать про те, що використання таких індукторів є технологічно простішим та ефективним методом не лише інтенсифікації синтезу бактеріоцинів, сурфактантів та антибіотиків, але й підвищення їхньої біологічної активності. Крім того, цей підхід часто супроводжується синтезом нових антимікробних метаболітів, не характерних для продуцента.

Вплив термічно інактивованих індукторів на синтез і антимікробну активність вторинних метаболітів

Продуцент	Ростовий субстрат для біосинтезу	Індуктор	Концентрація (активність) вторинних метаболітів		Тест-культури для визначення антимікробної активності	Антимікробна активність	Література
			без індуктора	з індуктором			
Бактеріоцини							
Bacillus subtilis NK16	Декстроза	Staphylococcus aureus ATCC 43090 / Bacillus sp. ATCC 6633	80 Од/мл	320 / 160 Од/мл	Staphylococcus aureus ATCC 43090	Зона затримки росту 25 мм (100 мкл/диск)	Fouad & Khalid, 2016
					Bacillus sp. ATCC 6633	Зона затримки росту 23 мм (100 мкл/диск)	
Поверхнево-активні речовини							
Bacillus sp. P34	Декстроза	Listeria monocytogenes ATCC 7644 / Aspergillus niger IFL5	Ітурін А 100 мг/л	Ітурін А 250 мг/л	Aspergillus niger IFL5	400 Од/мл*	Stincone та ін., 2020
					Listeria monocytogenes ATCC 7644	1600 Од/мл*	
Bacillus amyloliquefaciens P11	Декстроза	Staphylococcus aureus ATCC 25923 / Listeria monocytogenes ATCC 7644 / Aspergillus parasiticus (номер штаму не наведено)	Ітурін А 100 мг/л	Ітурін А 300 мг/л Сурфактин** Субтилозин А** Фенгіцин**	Staphylococcus aureus ATCC 25923	1333 Од/мл*	Leães та ін., 2016
					Listeria monocytogenes ATCC 7644	933 Од/мл*	
					Aspergillus parasiticus (номер штаму не наведено)	1600 Од/мл*	
	Глюкоза	Candida albicans SC 5314	AF3 441 мг/л	AF3 1280 мг/л	Candida auris (номер штаму не наведено)	МІК 4-10 мкг/мл	Ramchandran та ін., 2020

<i>Bacillus subtilis</i> RLID 12.1			AF5 263 мг/л	AF5 960 мг/л	<i>Candida auris</i> (номер штаму не наведено)	МІК 4-16 мкг/мл	
Пігмент продигіозин							
<i>Serratia marcescens</i> S23	Крохмаль	<i>Escherichia coli</i> / <i>Bacillus subtilis</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штамів не наведено)	0.45 г/л	4.1 / 3.5 / 4.1 г/л	-----	Н.в.	Mahmoud та ін., 2015
<i>Serratia marcescens</i> (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Bacillus subtilis</i> / <i>Escherichia coli</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штамів не наведено)	100 мг/мл	200 / 170 / 130 мг/мл	-----	Н.в.	Luti та ін., 2018
<i>Streptomyces coelicolor</i> (номер штаму не наведено)	Глюкоза	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG	1.4 мг/л	9.8 мг/л	-----	Н.в.	Huy & Nguyen, 2014
Антибіотики							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Escherichia coli</i> / <i>Bacillus subtilis</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штамів не наведено)	Феназин 9.2 мг/л	Феназин 13.4 / 19.4 / 30 мг/л	<i>Escherichia coli</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 1.6 мм (200 мкл/диск)	Luti & Yonis, 2013
					<i>Bacillus subtilis</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 2.9 мм (200 мкл/диск)	
					<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 4.3 мм (200 мкл/диск)	
Інші вторинні метаболіти							
<i>Streptomyces</i> sp. RKND-216	Декстроза	<i>Alteromonas</i> sp. RKMC-009 / <i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 120515	N-Карбамоїл-2-гідрокси-3-метоксибензамід** Карбазохіноцин G** (алкалоїди)		-----	Н.в.	Liang та ін., 2020

<i>Streptomyces</i> sp. MH-133	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Staphylococcus aureus</i> (номер штаму не наведено)	Комплекс неідентифікованих антибактеріальних метаболітів	<i>Klebsiella pneumonia</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 24 мм (100 мкл/диск)	El-Sherbiny та ін., 2017
				<i>Staphylococcus aureus</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 24 мм (100 мкл/диск)	
				<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Зона затримки росту 22 мм (100 мкл/диск)	
				<i>Enterobacter cloacae</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 16 мм (100 мкл/диск)	
<i>Acremonium</i> sp. IMB18- 086	Рисове середовище	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Акремопептаїболи А-Ф** (16-залишкові пептаїболи)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33591	Зона затримки росту 15 мм	Xiaomeng та ін., 2021
				<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Зона затримки росту 16 мм	
				<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Зона затримки росту 12 мм	
				<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Зона затримки росту 10 мм	
<i>Chaetomium</i> sp. (номер штаму не наведено)	Рисове середовище	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (номер штаму не наведено)	Хетобутенолід А, С** Метилловий ефір WF- 3681** (похідні бутеноліду) Хетоїзохорісмін** Шикімеран Б** (аналоги шикімової кислоти)	-----.	Н.в	Ancheeva та ін., 2017

Примітки. Н.в. – не визначали; * - активність визначали як останнє розведення, що дає зону затримки росту, і вказували в одиницях активності на мілілітр; ** - синтез нових сполук не характерних для монокультури.

1.2.2 Живих клітини

Існують наукові дані, які свідчать, що живі клітини прокаріотичних та еукаріотичних індукторів можуть впливати на утворення та властивості бактеріоцинів (Fouad & Khalid, 2016; Ge та ін., 2014), сурфактантів (Aida & Marwa, 2020; Wang та ін., 2021), пігментів (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Sh та ін., 2019), антибіотиків (Luti & Yonis, 2013; Sharma та ін., 2017; Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013) та інших вторинних метаболітів (Whitt та ін., 2014).

Бактеріоцини. У дослідженні (Fouad & Khalid, 2016) було показано, що введення живих клітин *S. aureus* ATCC 43090 (0.5 %), *E. coli* (0.2 %) або *A. niger* (0.75 %) у середовище культивування продуцента бактеріоцинів *B. subtilis* NK16 спричинило 4-8-кратне підвищення синтезу кінцевого продукту порівняно з контрольним рівнем без індукторів. Отримані бактеріоцини проявили високу антимікробну активність проти клітин *S. aureus* ATCC 4309, *E. coli* та *A. niger*: зони затримки росту становили 27, 22 та 24 мм відповідно, що на 20-50 % перевищувало показники бактеріоцинів, синтезованих без індуктора. Інші автори (Ge та ін., 2014) встановили, що продукція парацину 1.7 штамом *Lactobacillus paracasei* HD1-7 збільшувалася майже на 75 % за наявності живих клітин *B. subtilis* ATCC 11774.

Мікробні поверхнево-активні речовини. У літературі є дані про вплив живих клітин прокаріотичних (Aida & Marwa, 2020) та еукаріотичних (Wang та ін., 2021) індукторів на синтез мікробних поверхнево-активних речовин.

У роботі (Aida & Marwa, 2020) встановлено, що емульгуюча активність сурфактантів *S. marcescens* (номер штаму не вказано) зросла у 1.7-3.5 рази при введенні у середовище культивування продуцента живих клітин *E. coli* або *S. aureus*. Сурфактанти, синтезовані у присутності індукторів, проявляли антимікробну активність щодо тестових культур *S. aureus*, *K. pneumonia*, *E. coli*, *B. subtilis*: зони затримки росту знаходилися в діапазоні 14-16 мм.

Синтез ітуруину А продуцентом *B. amyloliquefaciens* CX-20 підвищувався в середньому на 10 % за наявності живих клітин мікроміцетів *Aspergillus oryzae* 92011 або *Trametes* sp. 48424 (Wang та ін., 2021).

Пігменти. Ряд досліджень повідомляє про вплив живих прокаріотичних (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Sh та ін., 2019) та дріжджових (Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018) індукторів на синтез пігментів бактеріями роду *Pseudomonas* та *Serratia*.

Рівень синтезу продигіозину *S. marcescens* S23 зростав у 1.4-7 разів при додаванні до живильного середовища клітин *E. coli*, *B. subtilis* або *S. cerevisiae* (Mahmoud та ін., 2015), а максимальна концентрація цього метаболіту (3.1 г/л) досягалася при введенні дріжджового індуктора.

У дослідженні (Luti та ін., 2018) було встановлено, що додавання живих клітин *S. cerevisiae* до середовища культивування *S. marcescens* збільшувало синтез продигіозину до 170 мг/мл, що на 70 % перевищувало рівень, отриманий при культивуванні продуцента без індуктора. Використання прокаріотичних індукторів (*E. coli*, *B. subtilis*) призводило до підвищення кінцевого синтезу продигіозину *S. marcescens* до 220-250 мг/мл, що на 50 % більше, ніж при використанні дріжджових індукторів.

Автори роботи (Sh та ін., 2019) встановили, що додавання живих клітин *S. aureus* (0.5, 0.75 %), *K. pneumonia* (0.5, 0.75 %) або *B. subtilis* (0.25, 0.5 %) до середовища *P. aeruginosa* збільшувало синтез пігменту піоціаніну у 2.3 рази порівняно з культивуванням продуцента без індукторів. Піоціанін проявляв високу антимікробну активність проти клітин *S. aureus*, *K. pneumonia*, *B. subtilis* та *E. coli*: зони затримки росту знаходилися в діапазоні 26-38 мм.

Антибіотики. У літературі є дані про вплив живих клітин прокаріотичних мікроорганізмів (Sharma та ін., 2017; Luti & Yonis, 2013), дріжджів (Sharma та ін., 2017; Song та ін., 2020; Luti & Yonis, 2013) та мікроміцетів (Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013) на синтез антибіотиків актинобактеріями роду *Streptomyces*.

Наприклад, дослідники (Sharma та ін., 2017) встановили, що за наявності живих клітин *Bacillus cereus* або *S. cerevisiae* продукція валіноміцину штамом *Streptomyces lavendulae* ACR-DA1 зростала на 34-62 % порівняно з рівнем без індуктора.

У дослідженні (Song та ін., 2020) введення дріжджового індуктора *S. cerevisiae* у середовище для культивування продуцента *Streptomyces rimosus* M527 спричиняло

збільшення концентрації римоцидину на 42 %. Використання мікроміцета *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* як індуктора майже вдвічі підвищувало рівень синтезу антибіотика порівняно з контролем без індуктора.

Автори роботи (Wang та ін., 2013) повідомили, що введення живих клітин *A. niger* AS 3.6472 (0.2 %) або *Penicillium chrysogenum* AS 3.5163 (0.4 %) у середовище для культивування продуцента *Streptomyces natalensis* HW-2 підвищувало продукцію антибіотика натаміцину на 25-36 % порівняно з рівнем штаму HW-2, вирощеного без мікроміцетів.

Інші дослідники (Luti & Yonis, 2013) встановили, що за наявності живих клітин прокаріотичних мікроорганізмів *B. subtilis*, *E. coli* та дріжджів *S. cerevisiae* концентрація феназину, синтезованого *P. aeruginosa*, була на 80-145 % вищою, ніж при культивуванні продуцента без індукторів. Найефективнішим індуктором виявилися клітини *E. coli*, у присутності яких концентрація феназину зростала до 18.8 мг/л, що у 2.5 рази перевищувало значення без індуктора. Феназин проявляв антимікробну активність проти клітин-індукторів *B. subtilis*, *E. coli*, *S. cerevisiae*: зони затримки росту тестових культур становили 2.9, 1.6 та 4.3 мм відповідно.

Інші вторинні метаболіти. Під час культивування *Saccharopolyspora erythraea* ATCC 31772 у присутності клітин мікроміцета *Fusarium pallidoroseum* ATCC 74289 було ідентифіковано три нових аналогів тетрамінових кислот декаїлінового типу (N-деметилофіосетин, паллідоросетин А, паллідоросетин В) (Whitt та ін., 2014).

У таблиці 1.4 узагальнено вплив живих клітин-індукторів на синтез і антимікробну активність вторинних метаболітів. Отримані дані свідчать, що використання як прокаріотичних, так і дріжджових та мікробних індукторів може сприяти підвищенню синтезу бактеріоцинів, сурфактантів, антимікробних пігментів та антибіотиків. Синтез та активність індукованих метаболітів зростали при додаванні живих клітин-індукторів, проте майже не залежали від їхньої природи (про- чи еукаріотичні). Крім того, використання мікроміцетів як індукторів виявилось ефективним способом підвищення синтезу антибіотиків.

Вплив живих індукторів на синтез і антимікробну активність вторинних метаболітів

Продуцент	Ростовий субстрат для біосинтезу	Індуктор	Концентрація (активність) вторинних метаболітів		Тест-культури для визначення антимікробної активності	Антимікробна активність	Літе-рату-ра
			без індуктора	з індуктором			
Бактеріоцини							
Bacillus subtilis NK16	Декстроза	Staphylococcus aureus ATCC 43090 / Escherichia coli / Aspergillus niger (номер штамів не наведено)	Бактеріоцини 80 Од/мл	Бактеріоцини 640 / 320 / 320 Од/мл	Staphylococcus aureus ATCC 43090	Зона затримки росту 27 мм (100 мкл/диск)	Fouad & Khalid, 2016
					Escherichia coli (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 21 мм (100 мкл/диск)	
					Aspergillus niger (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 21 мм (100 мкл/диск)	
Lactobacillus paracasei HD1-7	Глюкоза	Bacillus subtilis ATCC 11774	Парацин 1.7 60 Од/мл	Парацин 1.7 105 Од/мл	-----	Н.в.	Ge та ін, 2014
Поверхнево-активні речовини							
Bacillus amylolique-faciens CX-20	Глюкоза, ріпаковий шрот	Aspergillus oryzae 92011, або Trametes sp. 48424	Ітурін А 1.74 г/л	Ітурін А 1.88 / 1.95 г/л	-----	Н.в.	Wang та ін., 2021
Serratia marcescens (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	Escherichia coli / Staphylococcus aureus (номер штамів не наведено)	0.27 (одиниць емульгуючої активності)	0.46 / 0.94 (одиниць емульгуючої активності)	Staphylococcus aureus (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 14 мм (40 мкг/диск)	Aida & Marwa, 2020
					Klebsiella pneumonia (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 16 мм (40 мкг/диск)	

					<i>Escherichia coli</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 14 мм (40 мкг/диск)	
					<i>Bacillus subtilis</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 16 мм (40 мкг/диск)	
Антимікробні пігменти							
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Staphylococcus aureus</i> / <i>Klebsiella pneumonia</i> / <i>Bacillus subtilis</i> (номер штамів не наведено)	Піоціанін 17 мг/мл	Піоціанін 38 / 40 / 33 мг/мл	<i>Staphylococcus aureus</i> (номер штаму не наведено) <i>Bacillus subtilis</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 34 мм (40 мкг/диск) Зона затримки росту 28 мм (40 мкг/диск)	Sh та ін., 2019
					<i>Escherichia coli</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 26 мм (40 мкг/диск)	
					<i>Klebsiella pneumonia</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 38 мм (40 мкг/диск)	
<i>Serratia marcescens</i> S23	Крохмаль	<i>Escherichia coli</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> / <i>Bacillus subtilis</i> (номер штамів не наведено)	Продігіозин 0.45 г/л	Продігіозин 2.5 / 3.1 / 0.65 г/л	-----	Н.в.	Mahmoud та ін., 2015
<i>Serratia marcescens</i> (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Bacillus subtilis</i> / <i>Escherichia coli</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штаму не наведено)	Продігіозин 100 мг/мл	Продігіозин 250 / 220 / 170 мг/мл	-----	Н.в.	Luti та ін., 2018

Антибіотики							
<i>Streptomyces lavendulae</i> ACR-DA1	Декстрин	<i>Bacillus cereus</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штамів не наведено)	Валіноміцин 50 мг/мл	Валіноміцин 81 / 67 мг/мл	-----	Н.в.	Sharma та ін., 2017
<i>Streptomyces rimosus</i> M527	Соєве борошно, маніт	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> / <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Римоцидин 0.21 г/л	Римоцидин 0.3 / 0.39 г/л	-----	Н.в.	Song та ін., 2020
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	Глюкоза, мальтоза	<i>Aspergillus niger</i> AS 3.6472 / <i>Penicillium chrysogenum</i> AS3.5163	Натаміцин 0.639 г/л	Натаміцин 0.799 / 0.875 г/л	-----	Н.в.	Wang та ін., 2013
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (номер штаму не наведено)	Триптон, дріжджовий екстракт	<i>Escherichia coli</i> , або <i>Bacillus subtilis</i> / <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штамів не наведено)	Феназин 7.6 мг/л	Феназин 18.8 / 13.8 / 14.5 мг/л	<i>Escherichia coli</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 1.6 мм (200 мкл/диск)	Luti & Yonis, 2013
					<i>Bacillus subtilis</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 2.9 мм (200 мкл/диск)	
					<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (номер штаму не наведено)	Зона затримки росту 4.3 мм (200 мкл/диск)	
Інші вторинні метаболіти							
<i>Saccharopolyspora erythraea</i> ATCC 31772	Декстроза	<i>Fusarium pallidoroseum</i> ATCC 74289	N-Деметилфосетин* Палідорозетин А* Палідорозетин В* (аналогі тетрамінової кислоти)		-----	Н.в.	Whitt та ін., 2014

Примітка: Н.в. – не визначали; * - синтез нових сполук не характерних для монокультури.

1.2.3 Супернатант після вирощування індукторів

У літературі міститься обмежена інформація щодо впливу супернатанту після культивування біологічних індукторів на синтез та антимікробну активність вторинних метаболітів. Більшість досліджень зосереджена на індукції синтезу бактеріоцинів (Fouad & Khalid, 2016), пігментів (Thu та ін., 2021), сурфактантів (Liu та ін., 2022), антибіотиків (Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013; Shen та ін., 2020; Wang та ін., 2017; Shi та ін., 2017b), а також інших вторинних метаболітів (Mohammadipanah та ін., 2020).

Бактеріоцини. У дослідженні (Fouad & Khalid, 2016) було встановлено, що додавання супернатанту після культивування *S. aureus* ATCC 43090 (2 та 3 %), *Bacillus* sp. ATCC 6633 (2 та 3 %), *A. niger* (2 та 3 %) або *S. cerevisiae* (3 %) у середовище для культивування продуцента бактеріоцинів *B. subtilis* NK16 супроводжувалося 2-4-кратним підвищенням синтезу кінцевого продукту порівняно з контролем без індукторів. Отримані бактеріоцини проявляли високу антимікробну активність проти клітин штамів-індукторів (*S. aureus* ATCC 43090, *Bacillus* sp. ATCC 6633, *A. niger*, *S. cerevisiae*): зони затримки росту становили 27, 25, 25 та 21 мм відповідно.

Пігменти. У дослідженні (Thu та ін., 2021) повідомлялося, що додавання супернатанту після культивування молочнокислих бактерій *Leuconostoc mesenteroides* або *Lactobacillus plantarum* до культури *S. coelicolor* призводило до синтезу пігменту продигіозину, який не є типовим для цього мікроорганізму.

Мікробні поверхнево-активні сполуки. Автори дослідження (Liu та ін., 2022) встановили 107.4 % підвищення синтезу ліпопептидів (назва не вказана) штамом *Streptomyces bikiniensis* HD-087 у присутності супернатанту після культивування *Magnaporthe oryzae* Guy11. Дослідники припустили, що одним із механізмів індукції є наявність у супернатанті грибкових проміжних метаболітів, які є попередниками у біосинтезі жирних кислот – компонентів ліпопептидів.

Антибіотики. Вплив супернатанту після культивування індукторів на синтез антибіотиків актинобактеріями роду *Streptomyces* був досліджений у ряді робіт (Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013; Shen та ін., 2020; Wang та ін., 2017; Shi та ін., 2017b).

Більшість статей присвячена синтезу натаміцину, причому як індуктор у цих дослідженнях використовували супернатант мікроміцетів.

Наприклад, автори роботи (Song та ін., 2020) показали, що введення супернатанту *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* або *S. cerevisiae* у живильне середовище *S. rimosus* M527 супроводжувалося підвищенням синтезу римоцидину на 42 % і 72 % відповідно порівняно з контролем без індукторів.

У дослідженні (Wang та ін., 2013) було встановлено, що синтез натаміцину штамом *S. natalensis* HW-2 зростав у 1.3-3 рази при додаванні супернатанту мікроміцетів *A. niger* AS 3.6472 (1.5 і 2 %) або *P. chrysogenum* AS 3.5163 (1.5 і 2 %). Водночас наявність супернатанту *S. cerevisiae* AS 2.2081 (2.5 %) у середовищі практично не впливала на синтез антибіотика.

У дослідженні (Shen та ін., 2020) синтез натаміцину штамом *S. natalensis* HW-2 зріс на 32 % при додаванні супернатанту *P. chrysogenum* AS 3.5163 у поживне середовище для культивування продуцента, що було зумовлено надекспресією гена *ilvH* у продуценті антибіотика за таких умов культивування. Крім того, метод секвенування РНК показав зміни у транскриптомі *S. natalensis* HW-2 під впливом супернатанту індуктора.

У подальших дослідженнях (Wang та ін., 2017) було встановлено, що за підвищення концентрації супернатанту *P. chrysogenum* AS 3.5163 до 6 % та введення його у середовище *S. natalensis* HW-2 через 24 години від початку процесу, концентрація натаміцину подвоювалася порівняно з культивуванням без індуктора.

За наявності супернатанту після культивування *A. niger* або *P. chrysogenum* (5 %) у середовищі *Streptomyces natalus* N5 спостерігалось 1.7-2-кратне підвищення концентрації натаміцину порівняно з контролем без індукторів (Shi та ін., 2017b).

Інші вторинні метаболіти. У 2020 році (Mohammadipana та ін., 2020) дослідники виділили, але не охарактеризували групу антибактеріальних метаболітів з культури *Promicromonospora kermanensis* DSM 45485 у присутності супернатанту *P. aeruginosa* UTMC 1404. Отримані сполуки проявили антимікробну активність проти *S. aureus* UTMC 1401: зона затримки росту становила 23 мм.

У таблиці 1.5 узагальнено вплив супернатанту після культивування біологічних індукторів на утворення та антимікробну активність вторинних метаболітів. Як і за наявності живих (див. *Таблицю 1.3*) або інактивованих (див. *Таблицю 1.4*) клітин-індукторів, використання супернатанту сприяло інтенсифікації синтезу бактеріоцинів, поверхнево-активних ліпопептидів та антибіотиків.

Вплив супернатанту після вирощування індукторів на синтез і антимікробну активність вторинних метаболітів

Продуцент	Ростовий субстрат для біосинтезу	Субстрат для біосинтезу	Концентрація (активність) вторинних метаболітів		Тест-культури для визначення антимікробної активності	Антимікробна активність	Література
			Без індуктора	З індуктором			
Бактеріоцини							
Bacillus subtilis NK16	Декстроза	Staphylococcus aureus ATCC 43090 / Bacillus sp. ATCC 6633 / Saccharomyces cerevisiae / Aspergillus niger (номер штаму не наведено)	Бактеріоцини 80 Од/мл	Бактеріоцини 160 / 160 / 320 / 160 Од/мл	Staphylococcus aureus ATCC 43090	Зона затримки росту 27 мм (100 мкл/диск)	Fouad & Khalid, 2016
					Bacillus sp. ATCC 6633	Зона затримки росту 25 мм (100 мкл/диск)	
					Saccharomyces cerevisiae	Зона затримки росту 25 мм (100 мкл/диск)	
					Aspergillus niger	Зона затримки росту 21 мм (100 мкл/диск)	
Антимікробні пігменти							
Streptomyces coelicolor (номер штаму не наведено)	Декстрин, пептон	Leuconostoc mesenteroides / Lactobacillus plantarum (номер штамів не наведено)	Продігіозин* (концентрація не наведена)		-----	Н.в.	Thu та ін., 2021
Поверхнево-активні речовини							
Streptomyces bikiniensis HD-087	Крохмаль, глюкоза	Magnaporthe oryzae Guy11	Ліпопептиди 285.6 мг/л	Ліпопептиди 531.3 мг/л	-----	Н.в.	Liu та ін., 2022
Антибіотики							

<i>Streptomyces rimosus</i> M527	Соєве борошно, маніт	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> / <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Римоцидин 0.21 г/л	Римоцидин 0.36 / 0.3 г/л (полієновий макролід)	-----	Н.в.	Song та ін., 2020
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	Глюкоза, мальтоза	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> AS 2.2081 / <i>Aspergillus niger</i> AS 3.6472 / <i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.5163	Натаміцин 0.639 г/л	Натаміцин 0.7 / 1.62 / 1.84 г/л (поліетиленовий антибіотик)	-----	Н.в.	Wang та ін., 2013
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	Вівсо	<i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.5163	Натаміцин 0.85 г/л	Натаміцин 1.25 г/л	-----	Н.в.	Shen та ін., 2020
<i>Streptomyces natalus</i> N5	Глюкоза	<i>Aspergillus niger</i> / <i>Penicillium chrysogenum</i> (номер штамів не наведено)	Натаміцин 0.85 г/л	Натаміцин 1.44 / 1.69 г/л	-----	Н.в.	Shi та ін., 2017b
<i>Streptomyces natalensis</i> HW-2	Глюкоза	<i>Penicillium chrysogenum</i> AS 3.5163	Натаміцин 1,2 г/л	Натаміцин 2.49 г/л	-----	Н.в.	Wang та ін., 2017
Інші вторинні метаболіти							
<i>Promicromonospora kermanensis</i> DSM 45485	Декстроза	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UTMC 1404	Назву не наведено (група антибактеріальних метаболітів)	<i>Staphylococcus aureus</i> UTMC 1401	Зона затримки росту 23 мм (50 мкг/диск)		Mohammadipanah та ін., 2020

Примітка: Н.в. – не визначали; * - синтез нових сполук не характерних для монокультури.

1.3 Вплив прокаріотичних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 і *Rhodococcus erythropolis* IMB Ac-5017

Наші власні експериментальні дослідження (Pirog та ін., 2020a; Pirog, Ivanov & Yarova, 2021; Pirog та ін., 2020b; Pirog та ін., 2022) показали можливість регулювання антимікробної активності мікробних поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* IMB B-7405, *A. calcoaceticus* IMB B-7241 та *R. erythropolis* IMB Ac-5017 шляхом введення живих та інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 та *E. coli* ІЕМ-1 у середовище з етанолом та промисловими відходами (відпрацьована соняшникова олія, відходи виробництва біодизелю).

У дослідженні (Pirog та ін., 2020a) було встановлено, що присутність у середовищі культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 з соняшниковою олією (2 % об/об) як живих, так і інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 сприяла утворенню біосурфактантів, антимікробна активність яких щодо тестових культур (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* ВМС-1) була у 3-6 разів вищою порівняно з рівнями, встановленими для поверхнево-активних речовин, синтезованих за культивування штаму IMB B-7405 без індукторів.

Аналогічні закономірності спостерігалися в дослідженнях з іншим продуцентом мікробних поверхнево-активних речовин – *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (Pirog, Ivanov & Yarova, 2021). Результати показали, що живі клітини *B. subtilis* БТ-2 були ефективнішими індукторами: у їхній присутності в середовищі культивування з технічним гліцерином (5 % об/об) синтезувалися ПАР, мінімальні інгібуючі концентрації яких проти *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* ВМС-1 були у 5.6-11 разів нижчими порівняно з отриманими для ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора.

У дослідженні (Pirog та ін., 2020b) було встановлено, що введення живих клітин *B. subtilis* БТ-2 у середовище культивування *R. erythropolis* IMB Ac-5017 з етанолом (2 % об/об) супроводжувалося синтезом поверхнево-активних речовин, які мали вищу антимікробну активність порівняно з ПАР, синтезованими без індуктора. Мінімальні інгібуючі концентрації цих ПАР щодо тестових культур становили 6 мкг/мл, що у 8 разів нижче, ніж у препаратів, отриманих без індуктора.

У подальших дослідженнях (Pirog та ін., 2022) замість живих клітин індуктора використовували термічно інактивовані клітини *B. subtilis* БТ-2. Було встановлено, що антимікробна активність сурфактантів, синтезованих за таких умов культивування, була у 16-32 рази вищою, ніж у препаратів, отриманих при культивуванні штаму ІМВ Ас-5017 без індуктора.

Узагальнена інформація щодо впливу живих та інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 на антимікробну активність біосурфактантів *N. vaccinii* ІМВ В-7405, *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 та *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 представлена в таблиці 1.6.

Отримані дані показали, що антимікробна активність досліджуваних ПАР (*R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 (Pirog та ін., 2020b, 2022), *N. vaccinii* ІМВ В-7405 (Pirog та ін., 2020a) та *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 (Pirog, Ivanov & Yarova, 2021)) практично не залежала від фізіологічного стану індукторів (живі чи інактивовані клітини).

Варто зазначити, що існує лише кілька повідомлень про вплив індукторів у різних фізіологічних станах на біологічну активність мікробних сурфактантів (див. таблиці 1.3-1.5). На відміну від описаних у доступній літературі даних, синтез досліджених нами мікробних поверхнево-активних речовин базується на використанні недорогих субстратів, зокрема промислових відходів (технічний гліцерин, відпрацьована соняшникова олія). Крім того, мікробні ПАР, синтезовані у присутності біологічних індукторів *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017, *N. vaccinii* ІМВ В-7405 та *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, проявили винятково високу антимікробну активність (значення МІК у межах 0.85-20 мкг/мл, див. таблицю 1.6).

Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* IMB B-7405, *A. calcoaceticus* IMB B-7241 і *R. erythropolis* IMB Ac-5017 за наявності живих та інактивованих клітин *Bacillus subtilis* БТ-2

Продуцент	Субстрат для біосинтезу	Фізіологічний стан клітин індуктора	Тест-культура	Мінімальні інгібуючі концентрації (мкг/мл) ПАР, синтезованих		Література
				без індуктора	з індуктором	
<i>Nocardia vaccinii</i> IMB B-7405	Відпрацьована соняшникова олія	Живі	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	120	20	Pirog та ін., 2020a
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	80	20	
		Термічно інактивовані	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	120	40	
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	80	20	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> IMB B-7241	Відходи виробництва біодизелю	Живі	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	9.8	0.85	Pirog, Ivanov & Yarova, 2021
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	4.9	0.85	
		Термічно інактивовані	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	9.8	2.2	
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	4.9	2.2	
<i>Rhodococcus erythropolis</i> IMB Ac-5017	Етанол	Живі	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	48	6	Pirog та ін., 2020b
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	48	6	
		Термічно інактивовані	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	96	3	Pirog та ін., 2022
			<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	48	3	

Аналіз опублікованої літератури щодо впливу біологічних індукторів у різних фізіологічних станах на синтез антимікробних вторинних метаболітів (див. *Таблиці 1.3-1.5*) показав, що механізми, які відповідають за підвищення здатності продуцентів синтезувати антимікробні сполуки, на сьогодні залишаються недостатньо вивченими. Дослідники визначили деякі з них:

- 1) збільшення синтезу антимікробних сполук як захисний механізм проти конкурентного мікроорганізму; продуцент розпізнає певні білки або рецептори інактивованих клітин індуктора (Fouad & Khalid, 2016);
- 2) присутність термічно інактивованих клітин індукторів впливає на експресію генів, пов'язаних із синтезом антимікробних пептидів (Leães та ін., 2016);
- 3) механізм взаємодії може бути обумовлений безпосереднім контактом між клітинами (Mahmoud та ін., 2015);
- 4) інактивовані клітини індукторів містять лізовані сполуки, які можуть виконувати роль попередників у виробництві метаболітів (Huy & Nguyen, 2014);
- 5) продукування специфічних метаболітів мікроміцетами, що стимулює транскрипційну активацію «мовчазного» кластеру біосинтетичних генів для синтезу антимікробних сполук (Wang та ін., 2017).

Доступна література щодо впливу біологічних індукторів на синтез антимікробних сполук значно менш представлена, ніж література, присвячена культивуванню мікроорганізмів методом спільної культури (Pirog & Ivanov, 2023; Wakefield та ін., 2017; Peng та ін., 2021). Водночас використання біологічних індукторів для отримання нових антимікробних метаболітів (Liang та ін., 2020; El-Sherbiny та ін., 2017; Xiaomeng та ін., 2021; Ancheeva та ін., 2017; Mohammadiparah та ін., 2020), збільшення синтезу або активності вже відомих сполук (Fouad & Khalid, 2016; Stincone та ін., 2020; Leães та ін., 2016; Ramchandran та ін., 2020; Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Huy & Nguyen, 2014; Luti & Yonis, 2013; Ge та ін., 2014; Aida & Marwa, 2020; Wang та ін., 2021; Sh та ін., 2019; Sharma та ін., 2017; Song та ін., 2020; Wang та ін., 2013; Shen та ін., 2020; Wang та ін., 2017; Shi та ін., 2017b; Liu та ін., 2022) є більш технологічно прийнятним підходом, оскільки такі процеси легше

масштабувати та впроваджувати (зокрема, використовуючи інактивовані клітини індукторів).

При цьому необхідно звернути увагу на вартість субстратів для поживних середовищ культивування, що застосовуються для біосинтезу вторинних метаболітів. Очевидно, що наступний етап досліджень має бути присвячений пошуку дешевших субстратів для біосинтезу та оптимізації складу культуральних середовищ. Крім того, різні дослідники часто використовували однакові біологічні індуктори для різних продуцентів різних вторинних метаболітів. У подальших дослідженнях слід також врахувати розширення спектра як прокаріотичних, так і еукаріотичних індукторів.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Об'єкти досліджень

Штам продуцента *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 як основний об'єкт дослідження є нафтоокислювальним бактеріальним штамом, місцем виділення котрого є забруднений нафтою зразок ґрунту, задепонований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України за реєстраційним номером ІМВ В-7241.

Біологічні індуктори, а саме штами мікроорганізмів, котрі були використані для визначення біологічних властивостей у період проведення власних експериментальних досліджень за темою дисертації відносяться до двох типів мікроорганізмів:

- Прокаріотичні індуктори, а саме, штам *Enterobacter cloacae* С-8 та *Bacillus subtilis* БТ-2;
- Еукаріотичний індуктор, а саме, штам *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1.

У експериментальних дослідженнях для визначення та оцінки біологічної активності мікробних поверхнево-активних речовин, а саме дослідження антимікробних/антиадгезивних властивостей та додатково здатності утворених ПАР до певного ступеня руйнувати про- та еукаріотичні біоплівки були використані відповідні штами культур прокаріотичної природи:

- *Enterobacter cloacae* С-8, *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2, *Bacillus subtilis* БТ-2, а також та еукаріотичної природи:
- штами *Candida tropicalis* РЕ-2, *Candida albicans* Д-6.

Всі викорисовувані у роботі штами індукторів та наведені тест-культури взяті з колекції живих культур мікроорганізмів Національного університету харчових технологій (НУХТ) кафедри біотехнології і мікробіології.

2.2 Умови та особливості культивування штаму продуцента поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241

Процес культивування штаму *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 відбувалося на базовому середовищі наведеного складу (г/л): KH_2PO_4 – 0,14,

$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ – 0,35, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1, NaCl – 1,0, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ – 0,6, дріжджовий автолізат – 0,5% (об'ємна частка), розчин мікроелементів – 0,1% (об'ємна частка).

Розчин мікроелементів (г/100 мл) складається з компонентів: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 0,004; KI – 0,0001; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; H_3BO_3 – 0,006; $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,03; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ – 0,6; Трилон Б – 0,5.

Джерелом вуглецю у поживному середовищі виступали наступні субстрати підтримуючи еквімолярність за вмістом вуглецю:

- *відходи виробництва біодизелю (технічний гліцерин)* (5 %, об'ємна частка, отриманий від Комсомольського біопаливного заводу, Полтавська область);
- *очищений гліцерин* (3%, об'ємна частка).

Інокулят (посівний матеріал) штаму продуцента ІМВ В-7241 вирощували на базовому середовищі, де у якості джерела вуглецю використовували відповідний (наведений вище) субстрат у концентрації - 0,5 %, об'ємна частка. Кількість посівного матеріалу, яку вносили у об'єм поживного середовища, складав 10 % та містив бактерії продуцента у кількості 10^4 – 10^5 кл/мл. Процес культивування проводили у колбах об'ємом 750 мл на качалках, швидкість обертів 320 об/хв, за температури 30 °С, тривалість культивування складала 7 діб.

2.3. Підготовка прокаріотичних та еукаріотичних індукторів для культивування продуцента *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241

У ході досліджень впливу біологічних індукторів використовувалися два варіанти одержання відповідного інокуляту:

в **першому варіанті** підготовки, бактерії *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Enterobacter cloacae* С-8 вирощували на мясо-пептонному агарі (МПА) протягом 24 годин. Отримували суспензію змивом 100 мл стерильної водопровідної води. Потім переливали у попередньо простерилізовані епіндорфи та проводили центрифугування за параметрами – тривалість 10 хвилин за швидкості 10000 g, отримуючи **супернатант** відповідного штаму індуктора. Збирали у стерильну пробірку та вносили у кількості 2,5 мл цієї суспензії на кожні 100 мл середовища продуценту ПАР.

Біомасу індуктора (**живі клітини**), яка залишилася після центрифугування ресуспендували у стерильній водопровідній воді до об'єму рівному перед центрифугуванням та вносили із рахунку 2,5 мл суспензії на 100 мл поживного середовища *A. calcoaceticus* IMB B-7241.

Одну з частин ресуспендованих живих клітин піддавали автоклавуванню при температурі 131°C протягом однієї години, з метою отримання **інактивованих клітин** відповідного індуктора для подальших досліджень. Після автоклавування, у розрахунку 10 мл суспензії на 100 мл поживного середовища, клітини були внесені до нового середовища продуцента ПАР для культивування.

В **другому варіанті** підготовки, штам бактерій *E. cloacae* C-8 та штам дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1 вирощували протягом однієї доби при аерації на качалці (320 об/хв) в базовому середовищі для штаму продуцента ПАР з глюкозою в концентрації 0,5% як джерелом вуглецю.

Подальша підготовка штамів індукторів C-8 та БТМ-1 у вигляді **живих клітин, інактивованих клітин та супернатанту** здійснювали як описано у першому варіанті.

Прокаріотичні штами індукторів і еукаріотичний були внесені на початковому етапі культивування продуцента ПАР. Продукуючий штам IMB B-7241 культивували в спеціально підготовлених 750 мл колбах, які були заповнені 100 мл поживного середовища. Цей процес відбувався на качалці, частота обертання була встановлена на 320 обертів на хвилину, з температурою під час культивування 30 °C протягом одного тижня.

2.4. Визначення концентрації та одержання препаратів поверхнево-активних речовин

Кількість поверхнево-активних речовин, синтезованих продуцентом ПАР за наявності індукторів чи без них, визначали модифікованою системою до методу *Bligh і Dyer*, тобто до сумішші хлороформу та метанолу (2:1) (суміш Фолча), додали 1М HCl, щоб співвідношення хлороформ–метанол–вода складало 4:3:2. Використання даного модифікованого методу, з огляду на синтез штамом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 полярних та неполярних ліпідів, дозволяє одержати наведені ліпіди з високою ефективністю (Pirog та ін., 2020b).

У ділильну циліндричну воронку об'ємом 100 мл було внесено 25 мл супернатанту, який відокремили при центрифугуванні культурної рідини за швидкості 5000 g протягом двадцяти (20) хв. До супернатанту додали ІМ розчин НСІ для регулювання рН 4,0-4,5 (приблизно 5 мл), закрили воронку шліфованою пробкою та перемішували протягом трьох (3) хвилин. На наступному кроці додали 15 мл суміші хлороформу і метанолу у співвідношенні 2:1 та перемішували п'ять (5) хвилин. Після закінчення екстракції суміш залишили в ділильній воронці для розділення фаз. Тоді нижню фракцію (це **органічний екстракт № 1**) злили, а водну піддали на повторний цикл екстракції. До водної фази під час повторної екстракції додавали ІМ розчин НСІ до значень рН 4,0-4,5 та знову вносили 15 мл суміші для екстрагування (хлороформ і метанол), екстрагуючи протягом п'яти (5) хвилин необхідні ліпіди. Після завершення повторного поділу фаз зливали нижню фракцію (це **органічний екстракт № 2**). Потім, втретє додавали ІМ розчин НСІ для вирівнювання значення рН до 4,0-4,5 та 25 мл суміші метанолу та хлороформу у співвідношенні 1 до 2 та екстрагували як для отримання органічного екстракту №2 отримуючи після поділу фаз **органічний екстракт №3**. Об'єднували всі отримані екстракти (№1-3) та випарювали на роторному випарнику ІР-ІМ2 до стабільної маси при 50 °С та абсолютному тиску 0,4 атм.

Використовували препарати розчинів поверхнево-активних речовин із відмінними концентраціями в залежності від використовуваного індуктора у проведених експериментальних дослідженнях. Для цього, одержаний після випарювання сухий залишок ПАР розчинили в стерильному фосфатному буфері (0,1 М, із значенням рН 7,0) до досягнення початкового об'єму в 25 мл, після чого подальше розведення до необхідної концентрації проводили цим же буфером. Розчини ПАР, підготовлені таким чином, стерилізували в автоклаві при температурі 112 °С протягом пів години (30 хв).

2.5. Визначення мінімальної інгібуючої концентрації ПАР

Для оцінки мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) поверхнево-активних речовин (ПАР), та дослідження їх антимікробного потенціалу використовували метод серійних двократних розведень у рідкому поживному середовищі. Дослідження

проводили в стерильних умовах, використовуючи 10 скляних пробірок, в кожен з яких попередньо помістили 1 мл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ). До першої пробірки додавали рівний об'єм розчину ПАР з відомою початковою концентрацією, після чого ретельно перемішували. Далі 1 мл отриманої суміші переносили у другу пробірку, знову здійснювали змішування, а потім цей процес повторювали послідовно для всіх послідовних пробірок. Оскільки з кожного попереднього зразка забирали однаковий об'єм, кінцева концентрація речовини в кожній наступній пробірці зменшувалася вдвічі. Надлишковий 1 мл рідини з останньої пробірки видаляли, забезпечуючи рівний об'єм у всіх пробірках. Контрольний зразок містив 1 мл стерильного МПБ без додавання досліджуваних поверхневих речовин. Після підготовки розведень до кожної пробірки вносили 0,1 мл суспензії тестових культур мікроорганізмів, концентрація яких варіювала у межах 10^5 – 10^6 КУО/мл. Проби ретельно перемішували та залишали інкубуватися в термостаті за температури 28–30°C протягом однієї доби (24 години).

Результати аналізували шляхом візуального спостереження за ступенем прозорості рідкого середовища. У випадку помутніння пробірки фіксували наявність росту мікроорганізмів (+), а за відсутності змін прозорості - середовище залишалося стерильним (-). Мінімальну інгібуючу концентрацію визначали як найменшу кількість ПАР, що запобігала росту тестової культури в досліджуваних умовах, тобто відсутність росту.

2.6. Дослідження ступеня руйнування біоплівки під дією поверхнево-активних речовин

Формування мікробних біоплівок здійснювали за адаптованою методикою, описаною у дослідженні (Gomes & Nitschke, 2012). Для цього в стерильні полістиролові мікропланшети вносили 180 мкл відповідного рідкого поживного середовища (м'ясо-пептонного бульйону або суслу) та 20 мкл суспензії одnodобової культури бактеріальних чи дріжджових тест-культур. Після ретельного перемішування планшети розміщували в термостаті, де підтримували оптимальну температуру для росту тестових організмів на період 24 години, після чого культуральну рідину повністю видаляли. У лунки додавали 180 мкл свіжого

поживного середовища та 20 мкл суспензії тест-культури, після чого знову залишали на інкубацію впродовж наступних 24 годин. Після закінчення 48-годинного періоду інкубації поживне середовище зливали, а сформовані біоплівки досліджуваних тест-культур піддавали впливу поверхнево-активних речовин. Для цього у кожен лунку вносили 200 мкл досліджуваного розчину ПАР відповідної концентрації. Контрольні проби (лунки) замість розчину ПАР містили таку ж кількість стерильної водопровідної води. Вплив ПАР на біоплівки тривав 24 години, після чого вміст лунок видаляли, а залишкові клітини біоплівки тричі промивали 200 мкл дистильованої води. Ступінь руйнування біоплівки (%) розраховували як різницю між рівнем клітинної адгезії в необроблених та оброблених зразках, що дозволяло оцінити ефективність дії досліджуваних поверхнево-активних речовин.

2.7. Визначення антиадгезивної дії поверхнево-активних речовин

Для оцінки антиадгезивних властивостей матеріалів використовували модифіковану методику, запропоновану (Rufino та ін., 2011). Попередньо підготовлені пластинки з абіотичних матеріалів (кахель, нержавіюча сталь) розміром 1 см² піддавали стерилізації в автоклаві при температурі 131°C протягом 60 хвилин, а лінолеум — при 112 °C на протязі тридцяти хвилин.

Тестові культури бактерій, які попередньо вирощували на м'ясо-пептонному агарі (МПА) та дріжджів, які вирощували на сусло-агарі (СА), суспендували у 100 мл стерильної водопровідної води. До отриманої суспензії вносили стерилізовані пластинки, які попередньо обробляли розчинами поверхнево-активних речовин (ПАР) різної концентрації, а також контрольні пластинки - без обробки. Інкубація здійснювалася в термостаті при температурі 30°C протягом двох (2) годин, після чого абіотичні тест-матеріали ретельно промивали 10 мл стерильної водопровідної води для усунення неадгезованих клітин.

Для фіксації адгезованих мікроорганізмів пластинки обробляли метанолом з концентрацією 99% протягом 15 хвилин, після чого висушували при кімнатній температурі під витяжною шафою. Далі матеріали занурювали у 1%-й розчин генціанвіолета, витримували протягом п'яти (5) хвилин, а потім промивали водопровідною водою для видалення надлишків барвника. Після висушування

оброблені пластинки піддавали дії розчином оцтової кислоти 33%-ої, що спричиняло десорбцію забарвлених клітин у рідину. Оцінку адгезії проводили шляхом спектрофотометричного вимірювання оптичної щільності отриманих суспензій десорбованих клітин на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм.

Рівень адгезії (%) оцінювали шляхом порівняння оптичної густини суспензії клітин, що залишилися на поверхні після обробки її розчинами ПАР, із відповідним показником контрольних зразків, які піддавали впливу фосфатним буфером. Отримане співвідношення конвертували у відсоткове значення.

2.8. Визначення активності ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Кількісне визначення активності ферментів біосинтезу досліджуваних ПАР (трегалозофосфат синтази (ЕС 2.4.1.15), фосфоенолпіруват (ФЕП) синтази (ЕС 2.7.9.2), фосфоенолпіруват карбоксилази (ЕС 4.1.1.31) та NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази (ЕС 1.4.1.4)) проводили за методом, описаним в роботі Рурон та ін., 2015.

Визначали активність ФЕП-синтази (ЕС 2.7.9.2) за інтенсивністю утворення пірувату, який аналізували шляхом оцінки рівня окиснення NADH при довжині хвилі 340 нм спряженій реакції з лактатдегідрогеназою. Активність NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази (ЕС 1.4.1.4) оцінювали за швидкістю синтезу глутамату, який утворювався в результаті окиснення NADPH при 340 нм, а ФЕП-карбоксилази (ЕС 4.1.1.31) — за інтенсивністю окиснення NADH при цій же довжині хвилі. Активність трегалозофосфатсинтази (ЕС 2.4.1.15) визначали за рівнем синтезу уридиндифосфату, який оцінювали спектрофотометрично через окиснення NADH при 340 нм у спряженій реакції з піруваткіназою та лактатдегідрогеназою.

Під час виконання ензиматичних аналізів застосовували реагенти провідних виробників: метилвіологен від Acros Organics(США); уридин-5'-дифосфатглюкоза, NADP⁺, NAD⁺ це продукція компанії Fluka(Швейцарія); ізоцитрат, лактатдегідрогеназу, ADP, дихлорфеноліндофенол, глюкозо-6-фосфат постачала фірма Serva(Німеччина); феназинметасульфат виробництва Merck (Німеччина). Усі інші необхідні реагенти були отримані від фірми Sigma(США).

Ферментативну активність виражали в нмоль продукту, що утворюється за хвилину на мг білка. Вміст білка в безклітинних екстрактах визначали за мет. Бредфорда. Дослідження активності ферментів проводили за температури 28-30°C, яка є оптимальною для росту продуцента ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241.

2.9. Статистична обробка результатів

Усі експерименти виконувалися в трьох повтореннях, із кількістю паралельних вимірювань від 3(-х) до 5(-ти). Достовірність результатів оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Вимірювання проводили згідно з методикою, описаною Руденко (2012), а саме:

1. Обчислювали середньоарифметичне значення одержаних результатів:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{l=1}^n x_l, \quad (2.1)$$

Де x_i - значення варіанту, $\sum_{l=1}^n x_l$ – сума варіантів від першого (x_1) і до n-го варіанту, n – узагальнене число варіантів або об'єм цієї сукупності.

2. Визначали різницю між середніми значеннями вибірок:

$$d = |\bar{x}_1 - \bar{x}_2|, \quad (2.2)$$

3. Для встановлення, вірогідна або випадкова дана різниця, обчислювали помилку різниці середніх значень за ф.:

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum(x_1 - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_2 - \bar{x}_2)^2}{(n-1)xn}}, \quad (2.3)$$

4. Розраховано фактично визначену величину t-критерію Ст'юдента:

$$t_\phi = \frac{d}{S_d}, \quad (2.4)$$

5. Визначено кількість ступенів вільності:

$$k = n_1 + n_2 - 2, \quad (2.5)$$

6. Вибрано значення стандартного t-критерію (t_{st}) для обраного рівня значущості α . Якщо значення $t_\phi \geq t_{st}$, нульову гіпотезу спростовували при великому рівні значимості ($P < 0,05$).

Результати отриманих досліджень виявилися статистично значущими згідно з t-критерієм Ст'юдента на рівні значущості 5 %. Усі статистичні розрахунки виконувалися за допомогою програмного забезпечення *Mathcad*.

РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ПРОКАРІОТИЧНИХ ІНДУКТОРІВ У РІЗНОМУ ФІЗІОЛОГІЧНОМУ СТАНІ НА БІОЛОГІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241

Попри численні застереження з боку міжнародних організацій охорони здоров'я, проблема неконтрольованого та надмірного застосування антибіотиків залишається актуальною й набуває загрозливих масштабів у глобальному вимірі повідомляється Управлінням з контролю над антибіотиками США (<https://www.cdc.gov/antibiotic-use/>). Незважаючи на заходи, спрямовані на обмеження безпідставного використання цих препаратів, їхнє необґрунтоване призначення та доступність продовжують сприяти поширенню антибіотикорезистентності. На жаль, незважаючи на неодноразові заклики ВООЗ, розробок нових антибіотиків бракує. Лише 8 із 51 нещодавно розробленого антибіотика можна занести в каталог як інноваційні препарати для лікування інфекцій, викликаних стійкими до антибіотиків бактеріями (Woolhouse та ін., 2016). Біологічно активні поверхнево-активні речовини мікробного походження розглядаються як перспективна альтернатива традиційним антимікробним агентам, що використовуються у різних сферах промисловості. Зокрема, мікробні біосурфактанти, такі як гліколіпіди, сурфактин та високомолекулярні біополімери, продукуються бактеріями, дріжджами та грибами, проявляючи широкий спектр функціональних властивостей. До таких характеристик належать антимікробна, протигрибкова, емульгуюча, антиадгезивна та цитотоксична активності, що робить ці сполуки перспективними для використання у боротьбі зі стійкими мікроорганізмами (Bjerk та ін., 2021).

Раніше було встановлено (Pirog та ін., 2019), що *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 здатний синтезувати мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) на субстратах із гліцерином із різним ступенем очистки (наприклад, відходи виробництва біодизелю). Вивчення біологічних властивостей таких мікробних сурфактантів, отриманих за культивування продуцентту на технічному гліцерині, призвело до зниження антимікробної активності порівняно з ПАР, синтезованими на очищеному гліцерині.

3.1. Вплив фізіологічного стану *Enterobacter cloacae* C-8 та *Bacillus subtilis* БТ-2 на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Синтез мікробних поверхнево-активних речовин значною мірою обмежений високими витратами на отримання цільового продукту в промисловості. Одним із ефективних методів зниження вартості таких технологій є застосування промислових відходів як альтернативних субстратів. Зокрема, перспективними джерелами вуглецю можуть слугувати технічний гліцерин — побічний продукт виробництва біодизелю. Вже є низка досліджень присячених використанню технічного гліцерину як джерела вуглецю, не зважаючи на токсичній його складових, наприклад, синтез дріжджових екзополісахаридів (Tzirita та ін., 2019). Таким чином, залучення подібних відходів у біотехнологічні процеси мікробного синтезу не лише сприятиме зменшенню собівартості кінцевого продукту, а й допоможе мінімізувати негативний вплив на довкілля шляхом раціональної утилізації відходів промислового походження.

За останнє десятиліття також набуло популярності спільне культивування мікроорганізмів, що включає культивування двох або більше мікроорганізмів в тому самому поживномусередовищі, для індукції експресії генів, що призводить до виробництва нових мікробних природних продуктів (Wakefield та ін., 2017) та його більш нова модифікація використання індукторів, тобто лише внесення конкуруючих мікроорганізмів до середовища культивування продуцента, що дозволяє спростити процес отримання практично цінних сполук через зменшення кількості параметрів нагляду за процесом біосинтезу та можливості масштабування для промислового виробництва (Stincone та ін., 2020).

Тому на першому етапі, досліджували можливість інтенсифікації антибактеріальної активності мікробних поверхнево-активних речовин продуцентом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на очищеному та технічному гліцерині з прокаріотичними індукторами *Bacillus subtilis* БТ-2 (рис. 3.1) та *Enterobacter cloacae* C-8 (рис. 3.2).

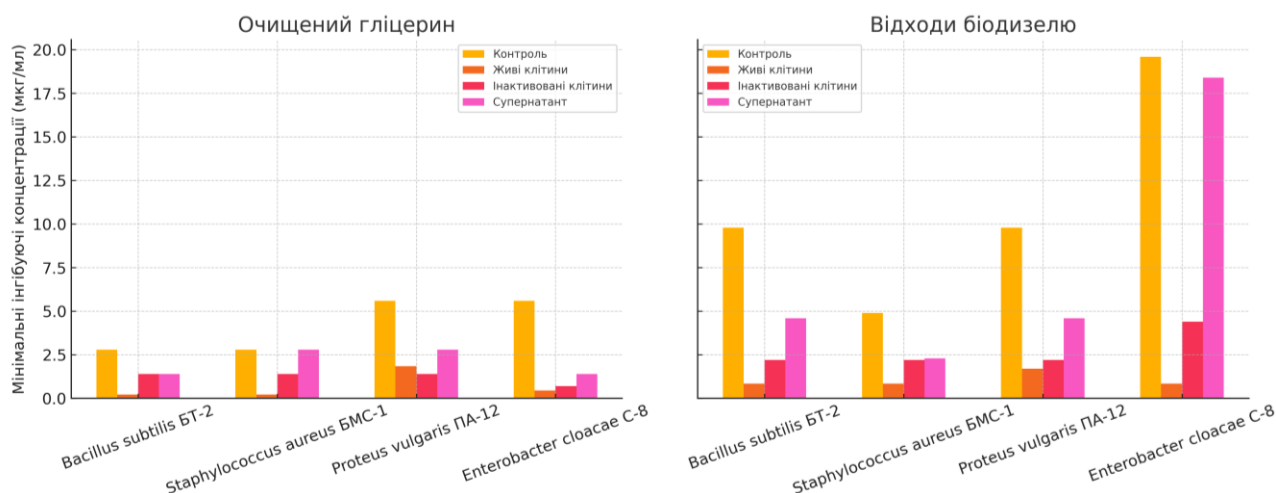


Рис. 3.1 Вплив мінімальних інгібуючих концентрацій бактеріальних тест культур за обробки ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезованих за наявності *Bacillus subtilis* BT-2

Результати, наведені на графіку (рис. 3.1), свідчать про те, незалежно від типу індуктора (живі та інактивовані клітини, супернатант) одержані за їх наявності ПАР характеризувалися високою антибактеріальною активністю щодо *B. subtilis* BT-2, *S. aureus* BMC-1, *P. vulgaris* PA-12, *E. cloacae* C-8. Так, мінімальні інгібуючі концентрації цих культур за обробки ПАР з використанням живих клітин індуктора коливалось в межах 0.23 – 1.84 мкг/мл, що майже в 3-22 рази перевищує результати з ПАР отриманими без використання індукторів. Крім цього, незважаючи на високі показники контролю при заміні джерела вуглецю у середовищі штаму продуцента IMB B-7241 на відходи виробництва біодизелю, мінімальні інгібуючі концентрації у разі використання індукторів для синтезу поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 були на тому ж рівні (рис. 3.1).

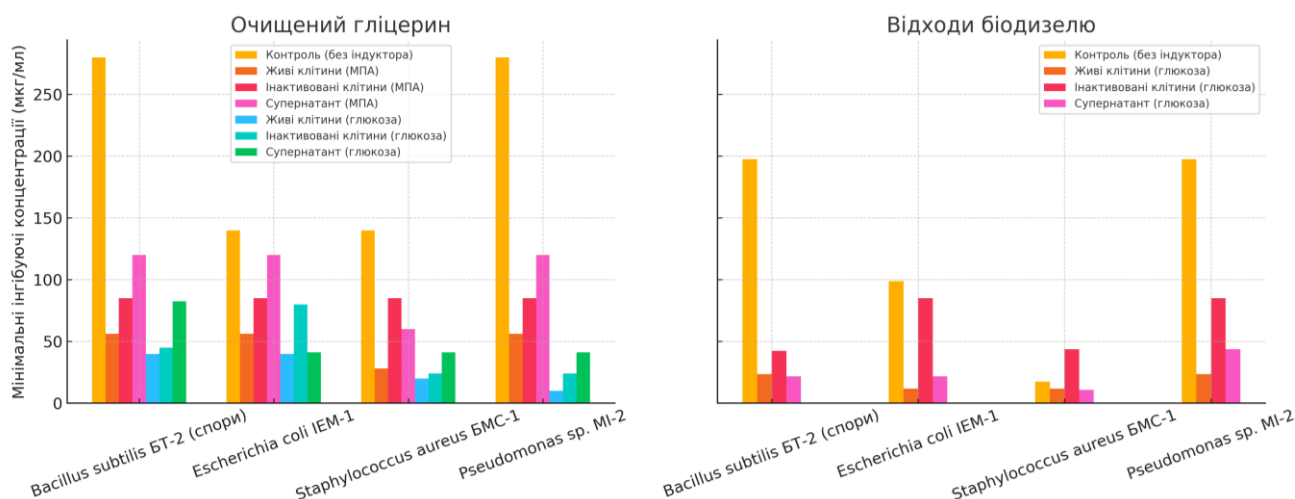


Рис. 3.2 Вплив мінімальних інгібуючих концентрацій бактеріальних тест культур за обробки ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезованих за наявності грамнегативного штаму *Enterobacter cloacae* C-8

Схожі закономірності МІК були встановлені для бактеріальних тест-культур (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *E. coli* ІЕМ-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2) у разі використання поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7241 з грамнегативним індуктором *E. cloacae* C-8 (див. рис. 3.2). Мінімальні інгібуючі концентрації, необхідні для повного пригнічення росту мікроорганізмів, у випадку таких ПАР (11,8–23,7 мкг/мл) виявилися у 1,5–16 разів нижчими, ніж аналогічні значення для ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора. Аналогічна тенденція спостерігалася і під час застосування ПАР, отриманих при культивуванні на відходах виробництва біодизелю. Водночас результати дослідження свідчать, що зміна варіанту підготовки індуктора (див. розділ 2.3), а саме підготовка всіх типів індуктора на рідкому середовищі з глюкозою підвищувалася ефективність одержаних ПАР у 1.5-3 рази.

Таблиця 3.1

Вплив ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності прокаріотичних індукторів на мінімальні інгібуючі концентрації дріжджових тест-культур

Субстрат для одержання ПАР	Фізіологічний стан клітин	Біологічний індуктор	Мінімальні інгібуючі концентрації (мкг/мл) щодо	
			<i>Candida albicans</i> Д-6	<i>Candida tropicalis</i> РЕ-2
Очищений гліцерин	Контроль (без індуктора)	<i>Enterobacter cloacae</i> C-8*	280	140
	Живі клітини		28,1	14
	Інактивовані клітини		10,6	21,2
	Супернатант		120	60
	Контроль (без індуктора)	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2*	11,2	11,2
	Живі клітини		3,75	1,87
	Інактивовані клітини		5,6	2,8
	Супернатант		11,2	11,2
Відхід Виробництва біодизелю	Контроль (без індуктора)	<i>Enterobacter cloacae</i> C-8*	197,5	98,7
	Живі клітини		11,8	5,9

	Інактивовані клітини	<i>Bacillus subtilis</i> BT-2**	42,5	42,5
	Супернатант		21,8	21,8
	Контроль (без індуктора)		19,7	19,7
	Живі клітини		7,0	3,5
	Інактивовані клітини		9,0	4,5
	Супернатант		18,4	9,2

Примітки: *- підготовка індуктора здійснювалася згідно першого варіанту наведено у розділі 2 «Матеріали і методи»; **- підготовка індуктора здійснювалася згідно другого варіанту наведено у розділі 2 «Матеріали і методи».

Під час визначення МІК похибка не перевищувала 5 %.

Результати МІК дріжджових культур роду *Candida*, за обробки їх ПАР отриманих у присутності різних прокаріотичних індукторів, на дріжджові культури роду *Candida* представлено у таблиці 3.1. Проаналізовані дані демонструють, що ПАР, синтезовані за участі живих клітин *Bacillus subtilis* BT-2 проявляють найбільш виражену антифунгальну активність щодо *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2 зменшуючи мінімальні інгібуючі концентрації до рівня 1,87 – 7 мкг/мл, або в 3 – 5,6 разів, порівняно з контролем. Схожі закономірності були встановлені за використання поверхнево-активних речовин, отриманий за внесення грамнегативного індуктора для одержання ПАР штамом *A. calcoaceticus* IMB В-7241. Найменші значення МІК щодо дріжджових тест-культур (МІК = 5,9-21,8 мкг/мл) вдалося досягти за обробки ПАР синтезованими за участі живих клітин та супернатанту *E. cloacae* С-8 на середовищі з відхідом виробництва біодизелю, підвищивши антифунгальну активність ПАР у 4-16 разів.

Обговорення отриманих результатів. З початку 2000 років спостерігається стрімке зростання кількості наукових публікацій, присвячених вивченню спільного культивування мікроорганізмів як механізму регуляції синтезу вторинних метаболітів. За цей період їх кількість зросла більш ніж вдвічі (Selegato & Castro-Gamboa, 2023). Перші дослідження у цій галузі демонстрували можливість збільшення синтезу вторинних метаболітів під впливом міжвидової взаємодії (спільне культивування), що може стимулювати утворення нових біологічно активних сполук, не характерних для монокультур (Peng та ін., 2021).

Так, наприклад, вченим Zhu та ін. (2011), було ідентифіковано новий алкалоїд – аспергіцин, який разом із неоаспергіловою кислотою та ергостеролом був виділений зі спільної культури штамів *Aspergillus* FSY-01 та FSW-02. Аспергіцин проявляв антимікробну активність проти широко відомих бактеріальних тест-культур, як: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, зі значеннями МІК 15- 62 мкг/мл.

Варто відзначити, що дослідження, присвячені впливу індукторів з різним фізіологічним станом (живі та інактивовані клітини) на активність антимікробних метаболітів, є обмеженими за кількістю. Зазвичай це живі мікроорганізми (Sharma та ін., 2017; Luti & Yonis, 2013; Lim та ін., 2022), значно рідше – інактивовані (термічно оброблені або автоклавовані) клітини (Huu & Nguyen, 2014), і лише поодинокі роботи фокусуються на використанні супернатанту після культивування індукторних мікроорганізмів через складність одержання препаратів зі стабільними властивостями (Kim та ін., 2021; Shi та ін., 2017b; Fouad & Khalid, 2016).

У роботі автори Sharma та ін., 2017 встановлено, що за присутності живих клітин *Bacillus cereus* біосинтез валіноміцину *Streptomyces lavendulae* ACR-DA1 зростає на 62 %. У дослідженні (Lim та ін., 2022) отримано невідкриті сполуки - лігіаміцинів А та В, культивуванням продуцента *Streptomyces* sp. GET02.ST з внесенням життєздатних клітин *Achromobacter* sp. GET02.A. Лігіаміцин А виявляв помірну антибактеріальну активність, інгібуючи ріст *S. enterica* та *S. aureus* при МІК = 16 мкг/мл. У той же час, лігіаміцин В продемонстрував значно нижчу антимікробну ефективність, оскільки його МІК була більшою за 128 мкг/мл. Проявляли слабку фунгіцидну активність щодо *Aspergillus fumigatus*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, МІК щодо котрих перевищували 128 мкг/мл.

Дослідники (Luti & Yonis, 2013) дослідили, що концентрація феназину продуцента *P. aeruginosa* не тільки підвищувалася при внесенні живих клітин прокаріотичних мікроорганізмів *E. coli* та *B. subtilis*, а дослідили антимікробну активність проти клітин-індукторів *B. subtilis*, *E. coli*: зони затримки росту тестових культур становили 2.9, 1.6 та 4.3 мм відповідно.

Дослідники (Huy & Nguyen, 2014) встановили, що автоклавовані клітини *Lactobacillus rhamnosus* LGG при внесенні у культуральне середовище актинобактерій *Streptomyces coelicolor* супроводжувалося синтезу продигіозину до 9.8 мг/л, що у 3 рази вище ніж у монокультури продуцента. Автори Fouad & Khalid, (2016) встановили, що додавання супернатанту після культивування *S. aureus* ATCC 43090, *Bacillus* sp. ATCC 6633 у концентрації 2–3% (об'ємна частка) у середовище культивування продуцента бактеріоцину *B. subtilis* NK16 збільшувало концентрацію кінцевого продукту у 2–4 рази порівняно з умовами без застосування індукторів. Чи іншими авторами було встановлено можливість підвищення у майже два рази концентрації натаміцину у середовищі *Streptomyces natalus* N5 за внесення супернатанту штамів *P. chrysogenum* та *A. Niger* (Shi та ін., 2017b).

Зазначимо, що у представлених роботах (Shi та ін., 2017b; Fouad & Khalid, 2016; Huy & Nguyen, 2014; Sharma та ін., 2017; Luti & Yonis, 2013) більшість дослідників визначали підвищення концентрації цільових сполук, проте не акцентували чи досліджували, властивості одержаних сполук. Лише у роботі (Luti & Yonis, 2013) було досліджено антимікробну активність феназину на тест-культури індуктора дифузії в агар з використанням паперових дисків.

На відміну від наведених літературних даних, наші результати досліджень (див. рис. 3.1, 3.2, табл. 3.1), що застосування біологічних індукторів у різних фізіологічних станах у процесі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 сприяло синтезу поверхнево-активних речовин із високою антимікробною активністю. При цьому отримані сполуки характеризувалися значно нижчими мінімальними інгібуючими концентраціями, що перевищували аналогічні показники, зафіксовані в попередніх дослідженнях, на кілька порядків. Це свідчить про ефективність запропонованого підходу до регуляції біосинтетичних процесів у мікроорганізмів-продуцентів та потенційну доцільність його подальшого впровадження у біотехнологічні стратегії отримання антимікробних агентів.

3.2. Деструкція мікробних біоплівки за дії поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності прокаріотичних індукторів у поживному середовищі

Бактерії та дріжджі, здатні утворювати біоплівки та вважаються основною причиною хронічних і гострих бактеріальних інфекцій. Протягом кількох десятиліть бактерії, що викликають поширені або тяжкі інфекції, набували стійкості до кожного нового антибіотика, який з'являвся на ринку (D'Sunha та ін., 2018). Кандидоз належить до найпоширеніших грибкових інфекцій, і його захворюваність значно зросла за останні десятиліття, так близько 80 % випадків кандидозу пов'язані з формуванням біоплівки – структурованих мікробних спільнот, прикріплених до поверхонь та інкапсульованих у захисну екзополімерну матрицю. Така організація забезпечує їм підвищену стійкість до впливу факторів навколишнього середовища, включаючи антимікотичні препарати (El-Baz та ін., 2021).

Внесення у середовище культивування індукторів в попередніх дослідженнях встановило можливість регулювання антимікробної активності ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 в різних умовах вирощування, метою наступних досліджень було оцінка дії таких ПАР на бактеріальні та дріжджові біоплівки відповідних тест-культур (рис 3.3 -3.10).

Аналіз отриманих даних (див. Рис. 3.3) демонструє, показники препаратом руйнування біоплівки бактеріальних і дріжджових тест-культур була дія ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, які продукувалися за присутності живих клітин-індукторів *Bacillus subtilis* БТ-2 у середовищі з технічним гліцериним.

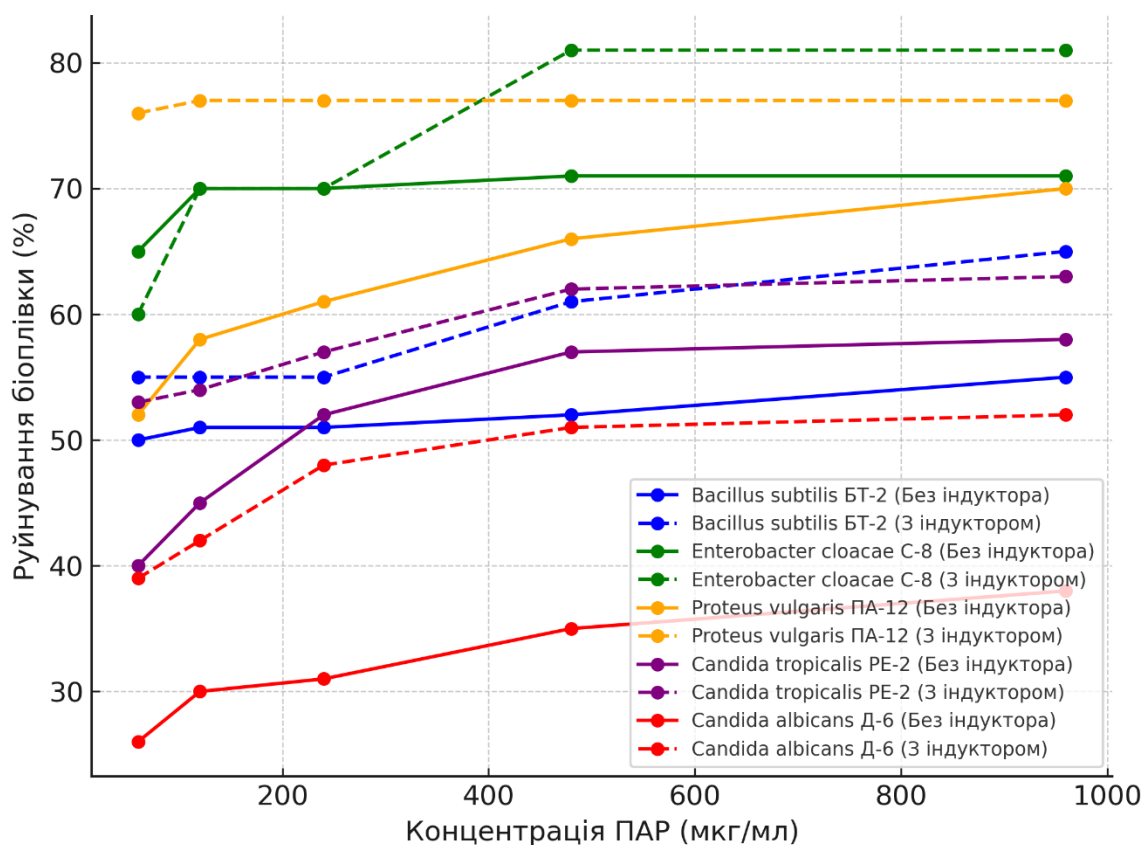


Рис.3.3 Руйнування біоплівки під дією поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих на відходах виробництва біодизеля, у присутності живих клітин *B. subtilis* БТ-2

Натомість використання інактивованих клітин або супернатанту як біологічних індукторів не сприяло посиленню антимікробної активності синтезованих ПАР. У цьому випадку рівень деструкції біоплівки не відрізнявся від показників, отриманих за дії поверхнево-активних речовин, синтезованих без додавання індукторів. Це свідчить про критичну роль життєздатних клітин індуктора у формуванні біологічно активних метаболітів із підвищеними антимікробними властивостями.

Отримані результати, представлені на рис. 3.4, вказують на те, що, на відміну від культивування *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 у середовищі з відходами біодизельного виробництва, вирощування продуцента поверхнево-активних речовин (ПАР) на очищеному гліцерині в присутності біологічних індукторів (як живих, так і інактивованих клітин, а також супернатанту *B. subtilis* БТ-2) сприяло синтезу ПАР обробка якими підвищувала ефективність деструкції бактеріальних біоплівки на 10–20 % порівняно з аналогічними показниками для препаратів, отриманих без

використання індукторів. Це свідчить про те, що навіть інактивовані клітини або їх метаболічні продукти, які містяться у супернатанті, можуть виступати стимуляторами біосинтетичної активності продуцента ПАР, сприяючи отриманню речовин із підвищеною здатністю до руйнування мікробних біоплівок.

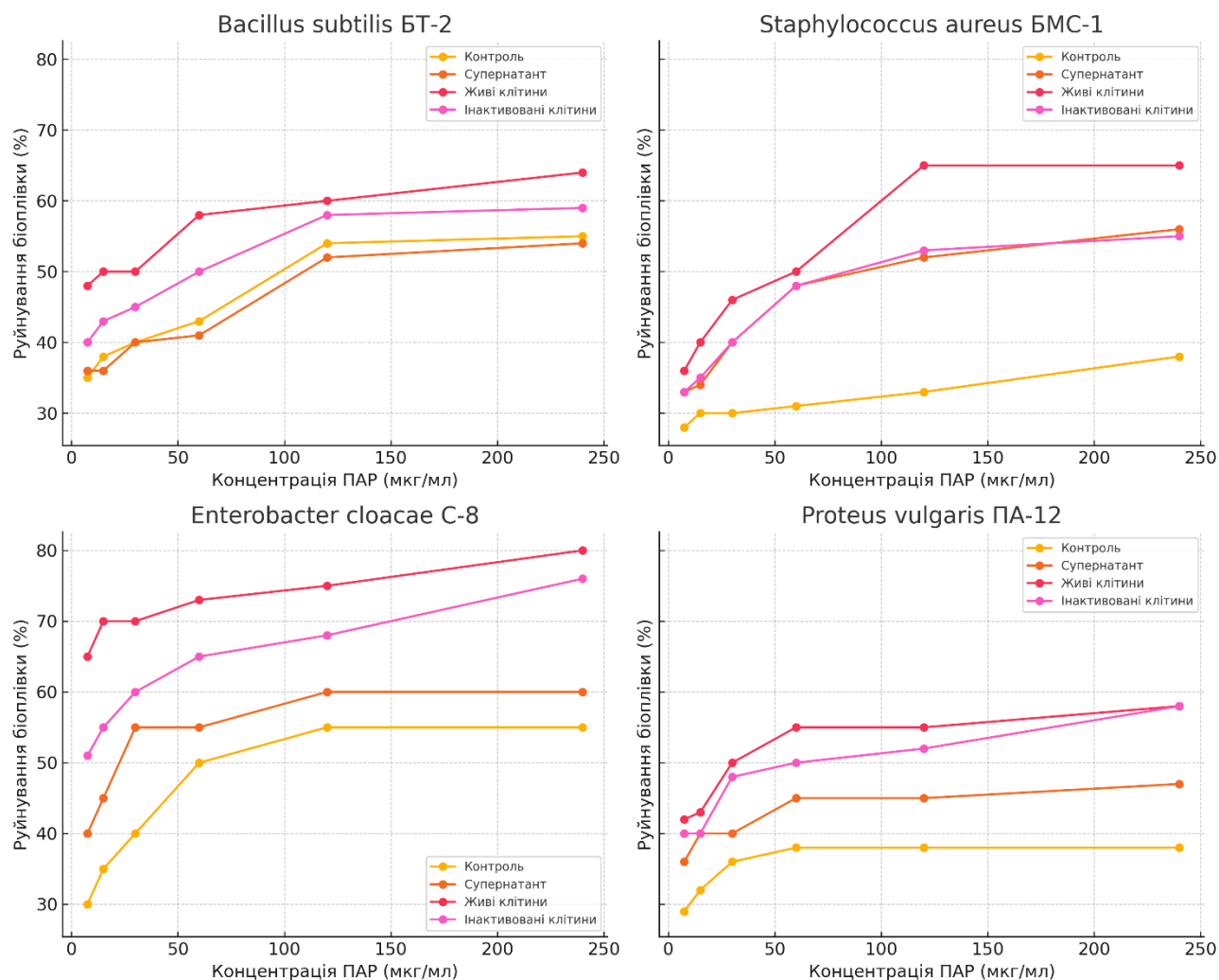


Рис. 3.4 Вплив поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на очищеному гліцерині в присутності клітин *B. subtilis* БТ-2, на руйнування бактеріальних біоплівок

Значне підвищення ефективності руйнування дріжджових біоплівків під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 на очищеному гліцерині, спостерігалось лише за умови використання як біологічних індукторів живих або інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2. Водночас застосування супернатанту не сприяло зростанню антимікробної активності синтезованих ПАР (див. рис. 3.5).

Ступінь деградації дріжджових біоплівочок у середовищі з живими клітинами штаму БТ-2 був на 6–16% вищим порівняно з рівнем деструкції біоплівочок за дії ПАР, синтезованих у присутності інактивованих клітин, та на 10–23% перевищував показники для препаратів, отриманих без індуктора.

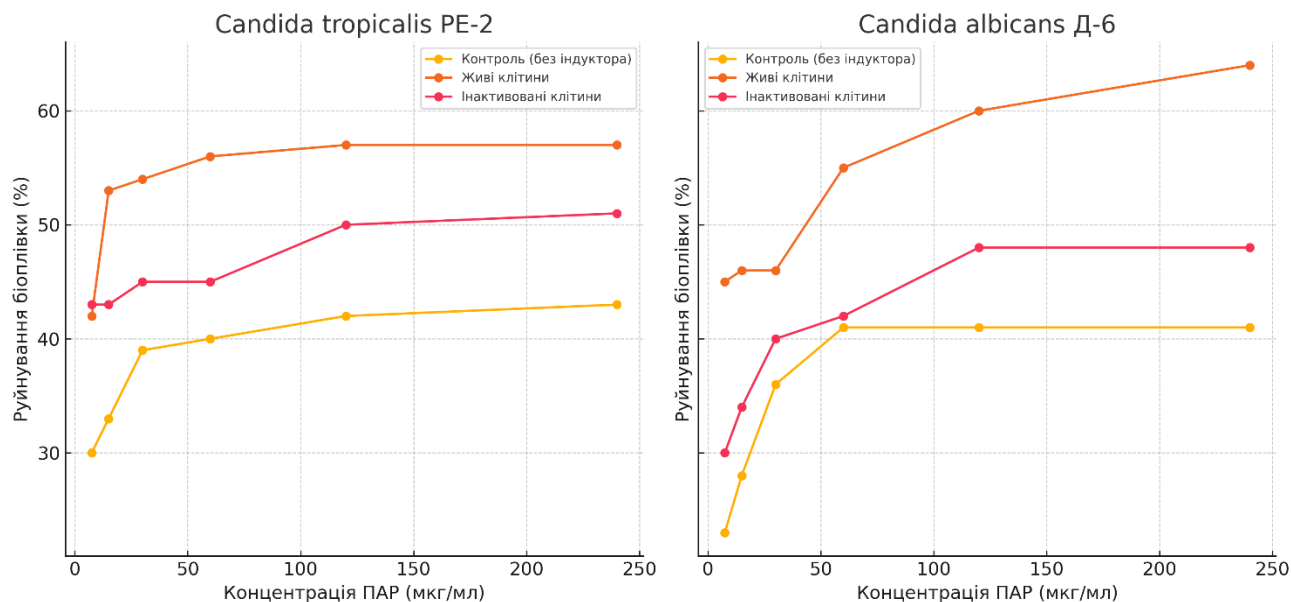


Рис. 3.5 Руйнування дріжджових біоплівочок поверхнево-активними речовинами, синтезованими продуцентом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на очищеному гліцерині в присутності живих та інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2

Схожі результати були встановлені за використання в якості індуктора грамнегативних бактерій *E. cloacae* С-8, де відповідні ПАР мали значно вищу ефективність у руйнуванні бактеріальних і дріжджових біоплівочок у діапазоні 320–640 мкг/мл (див. рис. 3.6-3.10).

Результати досліджень свідчать, що деструкція біоплівочок, сформованих грамнегативними бактеріями (*Pseudomonas* sp. МІ-2, *E. cloacae* С-8), під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих у середовищі з гліцерином різного ступеня очищення за присутності живих клітин *E. cloacae* С-8, культивованих у рідкому середовищі з глюкозою, а також відповідного супернатанту, перевищувала аналогічні показники для препаратів, отриманих без додавання індуктора. Зокрема, у середньому ступінь деградації біоплівочок зростав на 10–45 % та 15–30 % відповідно. В присутності живих клітин *E. cloacae* С-8 та їх супернатанту: ступінь руйнування

біоплівки при обробці ПАР становив 55–95 % у широкому діапазоні концентрацій (80–640 мкг/мл) (при використанні в якості субстрату для ПАР відходи виробництва біодизелю).

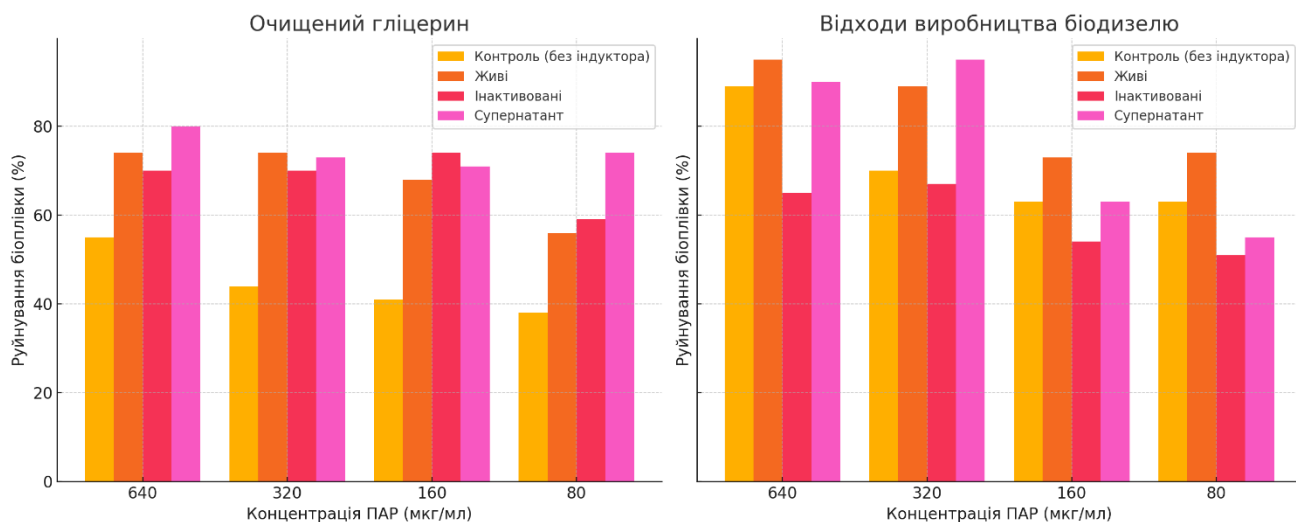


Рис. 3.6 Вплив клітин *E. cloacae* C-8 на здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 руйнувати біоплівку *Pseudomonas* sp. MI-2

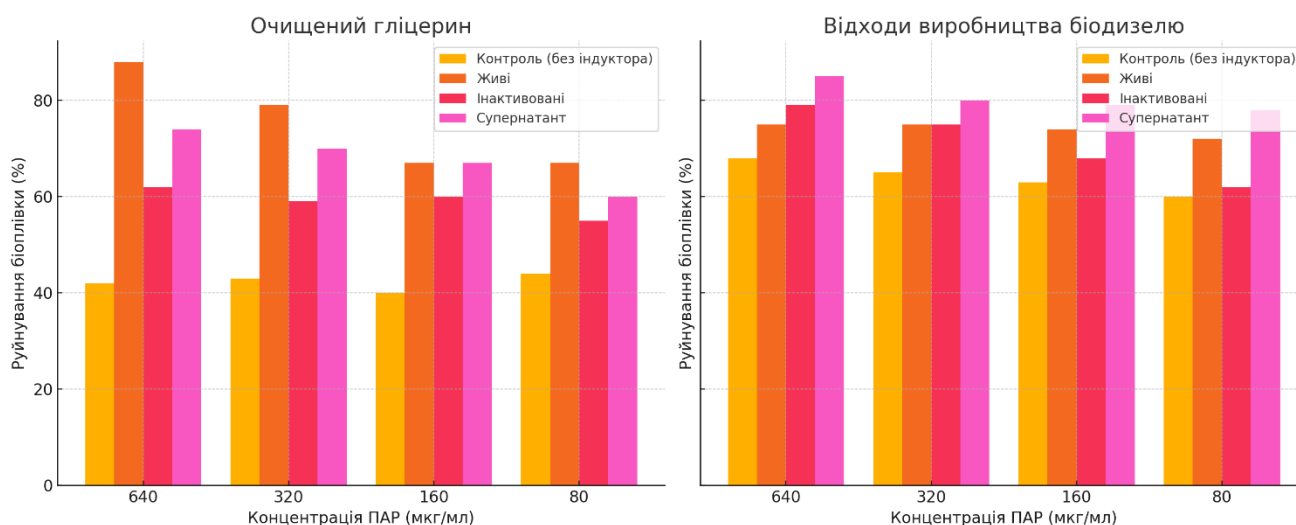


Рис. 3.7 Вплив клітин *E. cloacae* C-8 на здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 руйнувати біоплівку індуктора

Аналізуючи ефективність деструкції біоплівок, утворених грампозитивними бактеріями (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1) (див. рис. 3.8, 3.9), під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих у середовищі з гліцерином різного ступеня очищення за наявності живих клітин, супернатанту *E. cloacae* C-8, були встановлені аналогічні показники як і проти грамнегативних тест-культур раніше.

Зокрема, ефективність руйнування біоплівки зростає у середньому на 10–30 % порівняно з препаратами, отриманими без індукторів. Проте, найвищий ступінь деградації біоплівки *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1 (більше 70 %) спостерігався за обробки препаратами ПАР, синтезованих у середовищі на основі відходів біодизельного виробництва у присутності супернатанту після культивування *E. cloacae* С-8.

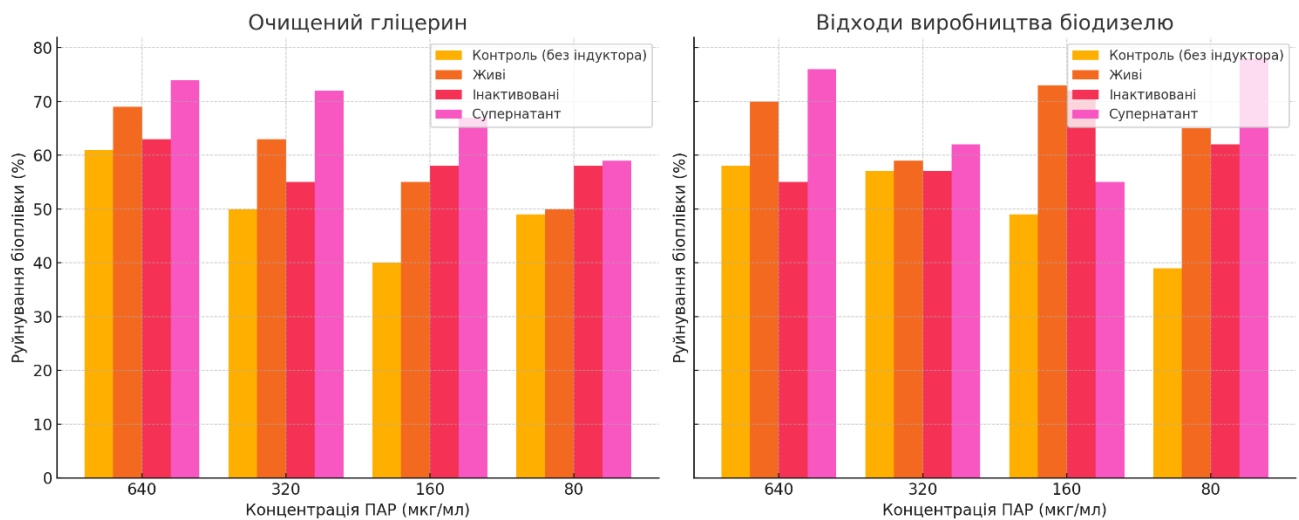


Рис. 3.8 Вплив клітин грамнегативного індуктора на здатність продуцента ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 руйнувати біоплівку *B. subtilis* БТ-2

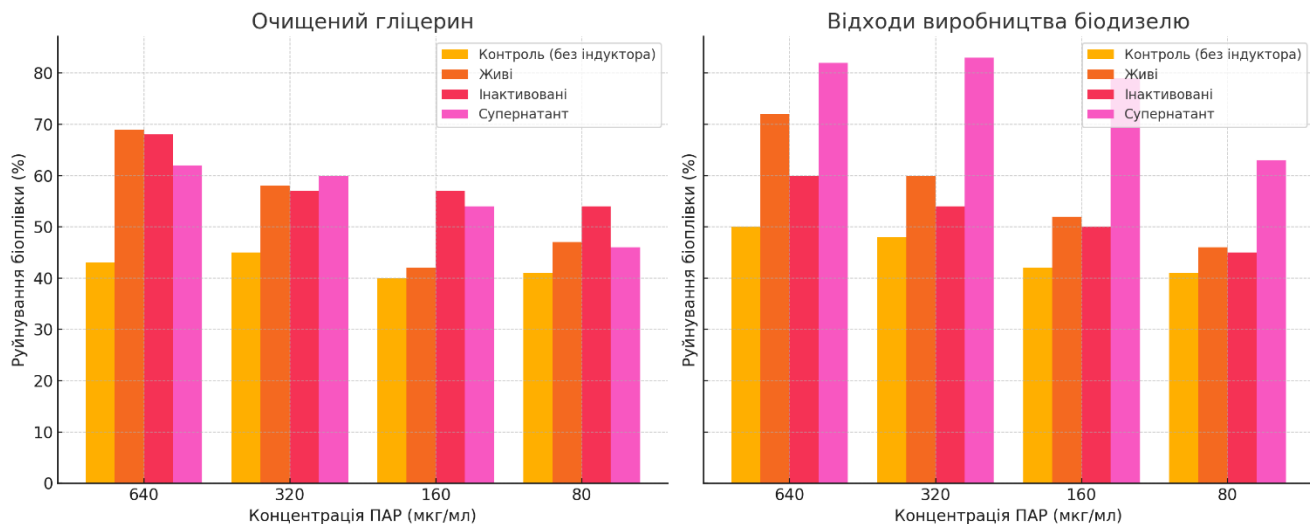


Рис. 3.9 Здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 руйнувати біоплівку *S. aureus* БМС-1 Вза впливу клітин *E. cloacae* С-8 як індуктора

Встановили щодо деструкції дріжджових біоплівки (*C. tropicalis* РЕ-2) (див. рис. 3.10), що утворені за наявності живих клітин індуктора С-8 ПАР на середовищі з гліцерином (очищений, технічний) була вищою на 10-30 % порівняно з показниками

для ПАР, отриманих без використання біологічного індуктора. Максимальний ступінь деградації біоплівки дріжджів, що перевищував 80 %, спостерігався лише при застосуванні найвищої концентрації препаратів ПАР (640 мкг/мл). Ступінь декструкції *C. albicans* Д-6 був вищим за обробки ПАР з індукторами на 20-25 % проте майже не залежав від типу індуктора.

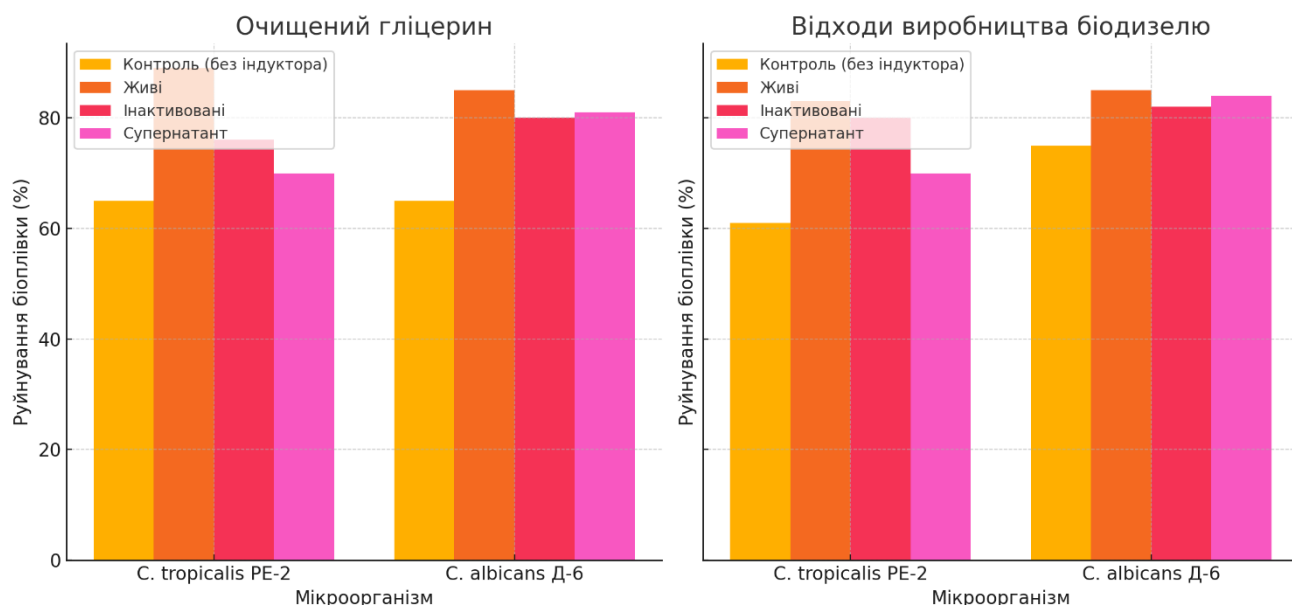


Рис. 3.10 Руйнування біоплівки *C. tropicalis* PE-2 та *C. albicans* Д-6 препаратами ПАР (640 мкг/мл), синтезованими *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності конкурентних грамнегативних бактерій

Обговорення отриманих результатів. Наявні літературні дані (Gomez та ін., 2016; Kimelman & Shemesh, 2019; Schneider та ін., 2020) з впевненістю підтверджують, що за спільного культивування мікроорганізмів, утворюються сполуки, котрі мають властивості до деструкції бактеріальних плівок.

У дослідженні (Gomez та ін., 2016) було встановлено, що за ко-культивування *Lactococcus lactis* VB69 і VB94 із бактеріями-індукторами *Lacticaseibacillus casei* 40, *Lactococcus lactis* 368, *Lactobacillus helveticus* 354 сприяло біосинтезу бактеріоцинів, котрі руйнували біоплівки тест-культур (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028).

В іншому експериментальному дослідженні (Kimelman & Shemesh, 2019) встановлено, що синтезовані ліпопептиди (не визначали склад) продуцента *Bacillus*

subtilis за культивування з супернатантом *Lactobacillus rhamnosus* проявляли здатність до руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* ATCC25923 після 24 годин інкубації.

Автори (Schneider та ін., 2020) встановили, що серратіохелін А та С (сидерофори), синтезовані в процесі ко-культивування *Shewanella* sp. (штам не наведено) з *Serratia* sp. (штам не наведено), проявляли антимікробну, антибіоплівкову та цитотоксичну активності. Серратіохелін А у концентрації 200 мкМ спричиняв інгібування біоплівки *Staphylococcus epidermidis* до 40 %.

За останні роки з'явилися літературні дані (Allegrone та ін., 2021; Giri та ін., 2019; Elshikh та ін., 2017), щодо ефективності мікробних поверхнево-активних речовин у руйнуванні бактеріальних біоплівок утвореними патогенними мікроорганізмами.

Встановлено авторами Elshikh та ін., 2017, що штам *Burkholderia thailandensis* E264 синтезував поверхнево-активні речовини (рамноліпіди), які забезпечували зниження росту біоплівок *Streptococcus oralis* (штам не наведено) та *Streptococcus sanguinis* (штам не наведено) до рівня 15-40 %.

Автори Giri та ін., 2019 визначили, що ліпопептиди (сполуки не визначені) синтезовані штамми *Bacillus licheniformis* VS16 та *Bacillus subtilis* VSG4 проявляти антимікробну, антиадгезивну та антибіоплівкову активність щодо тест-культур, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella typhimurium* ATCC 19430 та *Staphylococcus aureus* ATCC 29523. Поверхнево-активні речовини *Bacillus licheniformis* VS16 та *Bacillus subtilis* VSG4 руйнували біоплівки наведених тест-культур на 60-80 % та 61-69 %, відповідно.

Інші автори (Allegrone та ін., 2021) також досліджували ефективність рамноліпідів синтезованих *Pseudomonas aeruginosa* 89 у боротьбі зі біоплівками золотистого стафілококу *Staphylococcus aureus* 6538 ступінь руйнування котрої становив 85 %, що було в порівнянні ефективнішим удвічі за синтетичні аналоги (Triton^{Тм} X-100, Tween^{Тм} 80).

3.3. Адгезія мікроорганізмів на абіотичних поверхнях, оброблених поверхнево-активними речовинами *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, утвореними за внесення у середовище культивування *Enterobacter cloacae* C-8 чи *Bacillus subtilis* БТ-2

На сьогодні однією з проблем в медичній сфері є контамінація медичних приладів, що може призводити до адгезії бактерій на імплантатний матеріал, тому необхідним є його постійне захищення від можливої мікробної контамінації, тому важливим є пошук засобів, що запобігають адгезії мікроорганізмів.

Потрібно підкреслити, що рівень впливу фізико-хімічних характеристик поверхонь на аспекти процесу адгезії бактерій не розглядають при дослідженнях ефективності препаратів боротися з мікробною адгезією. Тому, дослідження впливу різних абіотичних матеріалів на можливості зменшення адгезивних властивостей клітин патогенних мікроорганізмів є актуальними. Використання ПАР можуть знизити ризики, пов'язані з адгезією бактерій, включаючи формування біоплівки та підвищення їх стійкості до антимікробних агентів завдяки своїм властивостям.

Одним із ключових механізмів антиадгезивного впливу мікробних біосурфактантів (ПАР) лежить антимікробна активність, що реалізується через порушення функціональної цілісності клітинної мембрани. Це відбувається внаслідок дестабілізації ліпідного бішару, що призводить до збільшення гідрофобності поверхні мікроорганізмів. Такі структурні зміни під впливом ПАР спричиняють підвищення проникності клітинних мембран, що, своєю чергою, зменшує здатність мікроорганізмів до адгезії на тверді поверхні (Ohadi та ін., 2020).

Тому наступним етапом наших експериментальних досліджень стало оцінки впливу прокаріотичних індукторів на антиадгезивні властивості ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241.

Результати, представлені в таблиці 3.2, демонструють кількість (%) бактеріальних клітин та дріжджових, що прикріпилися до сталевих пластинок та лінолеуму після їх обробки розчинами поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині різного ступеня очищення за наявності *B. subtilis* БТ-2. Встановлено, що обробка сталевих пластинок препаратами

ПАР (96 мкг/мл) призводила до суттєвого зменшення прикріплення клітин *B. subtilis* БТ-2, *P. vulgaris* ПА-12, *E. cloacae* С-8, *S. aureus* БМС-1 та дріжджів *C. tropicalis* РЕ-2, *C. albicans* Д-6: адгезія наведених культур була в 1,4-3 рази меншою, порівняно з власновленою для контрольних препаратів ПАР.

Аналогічні закономірності були виявлені під час дослідження адгезії бактерій на поверхні лінолеуму після обробки її розчинами ПАР, отриманими *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за різних умов культивування.

Неочікуваним виявилось те, що незалежно від наявності біологічних індукторів у середовищі культивування, антиадгезивна дія ПАР, отриманих на відходах виробництва біодизелю, перевищувала ефективність аналогічних препаратів, синтезованих на очищеному гліцерині на сталі (адгезія 10–60 % проти 10–85 % відповідно, див. табл. 3.2), а до лінолеуму – навпаки, була практично однаковою, і можуть свідчити про те, що антиадгезивна дія ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 обумовлена не лише антимікробним ефектом, а й іншими механізмами впливу на клітинну поверхню бактерій. Обробка лінолеуму та сталевих пластинок розчинами ПАР, синтезованих на гліцерині різного ступеня очищення за всіх типів індуктора, призводила до суттєвого зменшення прикріплення клітин дріжджів: адгезія *Candida* знижувалася в 1,5–5.5 рази.

Наступним етапом досліджень проводили оцінювання впливу на адгезію тест-культур (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1, *P. vulgaris* ПА-12, *E. cloacae* С-8, *C. albicans* Д-6, *C. tropicalis* РЕ-2) до сталі, лінолеуму та кахелю після обробки препаратами ПАР використовуючи як індуктор грамнегативний штам *E. cloacae* С-8.

Після обробки абіотичних матеріалів розчинами поверхнево-активних речовин (ПАР) у концентрації 64 мкг/мл, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у середовищі з індуктором, ступінь адгезії **грампозитивних бактерій** (*B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1) був у середньому на 10–26% нижчим, порівняно з ПАР, отриманими без додавання індукторів. На очищеному гліцерині ПАР, у разі використання інактивованих клітин або супернатанту *E. cloacae* С-8, зменшували адгезію: до кахелю та лінолеуму на 2-18 % і 5-23 % відповідно; до сталі на 6-11 %.

Аналогічні результати було отримано при дослідженні грампозитивних тест-культур на сталевих пластинах та кахелі після їх обробки розчинами ПАР, синтезованих *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у середовищі з відходами виробництва біодизелю за наявності інактивованих клітин та супернатанту *E. cloacae* С-8: зниження адгезії досліджуваних тест-культур у середньому на 10 %.

Встановлено, що рівень адгезії **грамнегативних бактерій** (*Proteus vulgaris* ПА-12, *Enterobacter cloacae* С-8) за аналогічних параметрів дослідження зменшувався на 10-20 % порівняно з аналогічними показниками для ПАР, утворених без індуктора: за використання живих клітин *E. cloacae* С-8. При застосуванні супернатанту штаму індуктора С-8 у середовищі з очищеним гліцерином відбувалося зниження адгезії грамнегативних бактерій на кахлі, сталі та лінолеумі в середньому на 3-16 % порівняно з впливом ПАР, синтезованих без індуктора. Найнижчий рівень прикріплення клітин тест-культури *E. cloacae* С-8 зафіксовано на пластинках сталі та кахлю для препаратів ПАР (64 мкг/мл) - 39-41 %.

Таблиця 3.2

Вплив препаратів поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності прокаріотичного індуктора, на прикріплення бактерій та дріжджів до сталі та лінолеуму

Субстрат для одержання ПАР	Біологічний індуктор	Абіотична поверхня	Адгезія клітин бактерій (%) за дії препаратів ПАР					
			<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	<i>Proteus vulgaris</i> ПА-12	<i>Enterobacter cloacae</i> C-8	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	<i>Candida tropicalis</i> РЕ-2	<i>Candida albicans</i> Д-6
Середовище 1*	Контроль (без індуктора)	Сталь	89	63	86	90	50	83
		Лінолеум	90	76	62	83	33	86
	Живі клітини <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	Сталь	44	12	50	25	10	14
		Лінолеум	30	20	28	33	18	23
	Інактивовані клітини <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	Сталь	67	12	50	25	10	14
		Лінолеум	60	25	46	38	19	26
	Супернатант	Сталь	78	50	56	50	30	17
		Лінолеум	70	50	56	40	24	28
Середовище 2**	Контроль (без індуктора)	Сталь	44	н.в.	64	50	90	54
		Лінолеум	н.в.	96	75	33	64	68
	Живі клітини <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	Сталь	11	н.в.	31	25	40	12
		Лінолеум	н.в.	40	32	17	15	13
	Інактивовані клітини <i>Bacillus subtilis</i> БТ-2	Сталь	11	н.в.	52	25	50	20
		Лінолеум	н.в.	70	39	17	24	17
	Супернатант	Сталь	33	н.в.	52	25	70	36
		Лінолеум	н.в.	70	57	25	42	18

Примітки: *- базове середовище наведено в Розділі 2 «Матеріали та методи», в якості джерела вуглецю 3% очищений гліцерин; **- базове середовище наведено в Розділі 2 «Матеріали та методи», в якості джерела вуглецю 5% відхід виробництва біодизелю; концентрація ПАР становила 96 мкг/мл; н.в. — не визначали; під час визначення адгезії похибка не перевищувала 5%.

У свою чергу, обробка лінолеуму ПАР (за внесення інактивованих клітин та супернатанту індуктора) одержаними у середовищі з очищеним гліцерином, рівень адгезії *P. vulgaris* ПА-12 на 6-16% порівняно з контрольними ПАР.

Заміна субстрату на відходи виробництва біодизелю, дозволила зменшити рівень адгезії *P. vulgaris* ПА-12 та *E. cloacae* С-8 до кахлю та сталі за обробки ПАР з інактивованими клітинами та супернатантом індуктора на 3-16 %.

За одержання препаратів ПАР (64 мкг/мл) на аналогічних субстратах та використовуючи індуктор *E. cloacae* С-8 у всіх фізіологічних станах рівень адгезії **дріжджових** тест-культур (*Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* РЕ-2) до досліджуваних абіотичних матеріалів був у середньому на 20–42 % нижчим порівняно з відповідними показниками за дії ПАР, синтезованих без індуктора.

При використанні інактивованих клітин та супернатанту ступінь прикріплення *C. albicans* Д-6 та *C. tropicalis* РЕ-2 до кахлю, сталі та лінолеуму за обробки ПАР (64 мкг/мл), одержаними на технічному гліцерині, знижувався в середньому на 15-35 % та 5-20 % відповідно, за використання живих клітин – знижувався на 6-25 %, порівняно з обробки розчинами ПАР, отриманих без *E. cloacae* С-8.

Обговорення отриманих результатів. Наразі інфекційні ускладнення, що виникають у процесі надання медичної допомоги, посідають друге місце серед основних причин летальних випадків, причому переважна більшість з них спричинена бактеріальними збудниками. Доведено, що до 20–40% внутрішньолікарняних інфекцій передаються через контакт із забрудненими руками медичного персоналу (Sofroniou та ін., 2024). Основними збудниками захворювань спричинені бактеріями *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus aureus* та дріжджами роду *Candida*, зокрема *Candida albicans* (Jablonska-Trypus та ін., 2022)

Згідно огляду (Wißmann та ін., 2021), де представлена інформація про виживання патогенів на внутрішньолікарняних поверхнях, можна виділити метилрезистентний штам золотистого стафілококу який на сталі, кахелі та пластику витримує до 6-8 тижнів, *Enterobacter cloacae* до 3 тижнів на сталі, кишкова паличка до 60 днів на сталі та до 8 тижнів на підлогових матеріалах (лінолеум, кахель), дріжджі роду *Candida* витримують майже на сталі, матеріалах підлоги щонайменше 30 діб. З

огляду на це, були обрані сталь, кахель та лінолеум як абіотичні поверхні, як найбільш вживані та ймовірно ризиковані. Як тест-культури обрані *Bacillus*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Candida*.

В літературі даних щодо дослідження антиадгезивних властивостей ПАР є обмежена кількість (Chebbi та ін., 2017; Giri та ін, 2019), при чому, в роботах автори не приділяють уваги механізмам, що дозволяють антимикробним сполукам знижувати адгезію досліджуваних тест-культур відсутня інформація про такі біологічні властивості ПАР, утворених на відходах виробництва біодизелю.

Науковці Giri, та ін, 2019 встановили, що після обробки полістирольних пластинок за високої концентрації ліпопептидів (3000 мкг/мл), синтезованих штамом *B. subtilis* VSG4 на очищеному гліцерині, рівень адгезії клітин *Bacillus cereus* MTCC 7190, *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, *Salmonella typhimurium* ATCC 19430 зменшився до 33—40 %. Аналогічними були дослідження інших авторів (Chebbi та ін., 2017), які встановили, що після обробки поверхонь полістиролу розчинами рамноліпідів, аналогічної Giri, та ін, 2019 концентрацій, синтезованих *Pseudomonas aeruginosa* W10 на гліцерині, антиадгезивна активність щодо *Bacillus licheniformis* CAN55, *Staphylococcus capitis* SH6 підвищувалася до 85% та 65 % відповідно.

Аналіз даних, наведених у табл. 3.2, засвідчує, що поверхнево-активні речовини, синтезовані *A. calcoaceticus* IMB B-7241, незалежно від використовуваного субстрату (очищений гліцерин або відходи виробництва біодизелю), демонструють вищу антиадгезивну ефективність порівняно з ПАР, дослідженими у зазначених роботах. Нами було проведені дослідження з інтенсифікації антиадгезивних властивостей ПАР за рахунок внесення різних типів індукторів у різному фізіологічному стані на широкій вибірці бактеріальних та дріжджових тест-культур.

3.4. Вплив прокаріотичних індукторів на активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

На завершальному етапі експериментальних досліджень оцінювали вплив різних форм біологічних індукторів, зокрема живих і інактивованих клітин *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Enterobacter cloacae* С-8, а також супернатанту, у середовищі з гліцерином різного ступеня очищення на ферментативну активність ключових біосинтетичних ензимів поверхнево-активних аміно- та гліколіпідів у *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 (рис 3.11 – 3.13).

Дослідження показали, що за наявності живих або інактивованих клітин індуктора у живильному середовищі активність NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази у клітинах штаму IMB B-7241 зростала в 1,5–2 рази порівняно з контролем (культивування без *B. subtilis* БТ-2). Водночас використання супернатанту не призводило до змін у рівні активності цього ферменту. Незалежно від типу індуктора, показники активності ФЕП-карбоксилази та трегалозофосфатсинтази залишалися на рівні контрольних значень, що свідчить про специфічний вплив *B. subtilis* БТ-2 саме на метаболічний шлях, пов'язаний із функціонуванням NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази (ЕС 1.4.1.4). Активність ФЕП-синтетази не залежала від внесення індукторів у середовище продуцента ПАР.

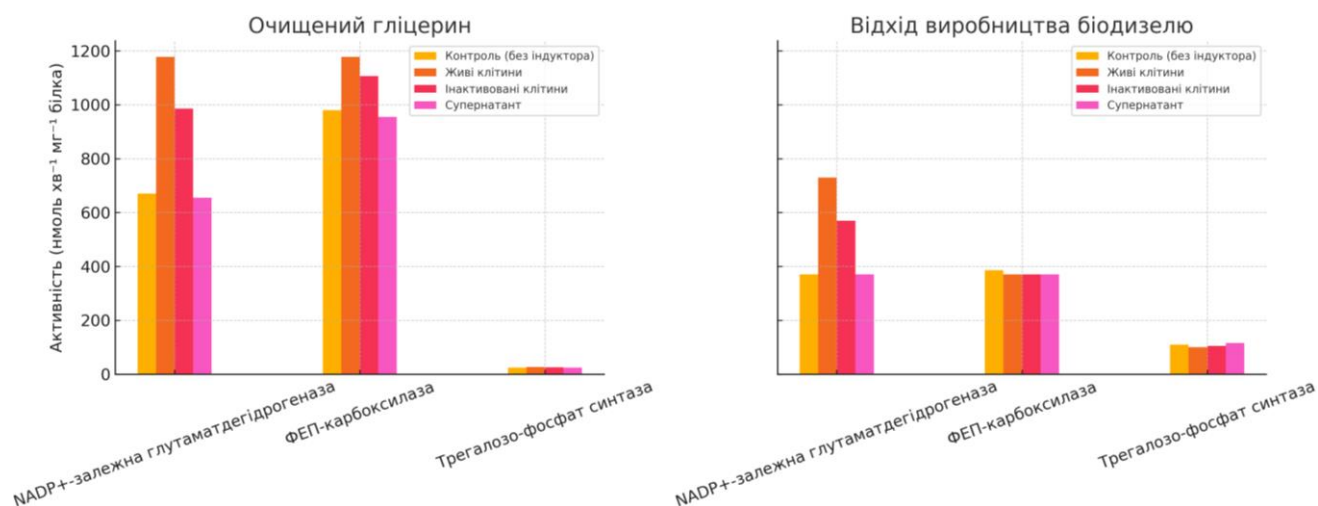


Рис. 3.11 Активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин у присутності *B. subtilis* БТ-2 у культуральному середовищі *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241

Можна побачити чітку кореляцію активності ферментів залучених у біосинтез поверхнево-активних сполук штамом IMB B-7241 з рівнем їхньої антимікробної активності (див. рис. 3.11). Зокрема, активність NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази, яка є ключовим каталітичним ферментом у біосинтезі аміноліпідів, що визначають антимікробний потенціал синтезованих поверхнево-активних речовин, зростала приблизно у 1,4 раза.

У процесі культивування продуцента поверхнево-активних речовин (ПАР) на очищеному гліцерині за присутності різних типів індукторів (живих або інактивованих клітин *E. cloacae* C-8, а також супернатанту) спостерігалось підвищення активності NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази в 1,6–2 рази (див. рис. 3.12). Одночасно активність ФЕП-синтетази знижувалася в 4–5 разів у порівнянні з показниками, зафіксованими в середовищі без індукторів (див. рис. 3.13). Рівень активності інших ферментів, що беруть участь у біосинтезі гліколіпідів сурфактанту, залишався практично незмінним у клітинах *A. calcoaceticus* IMB B-7241 незалежно від наявності індукторів у середовищі.

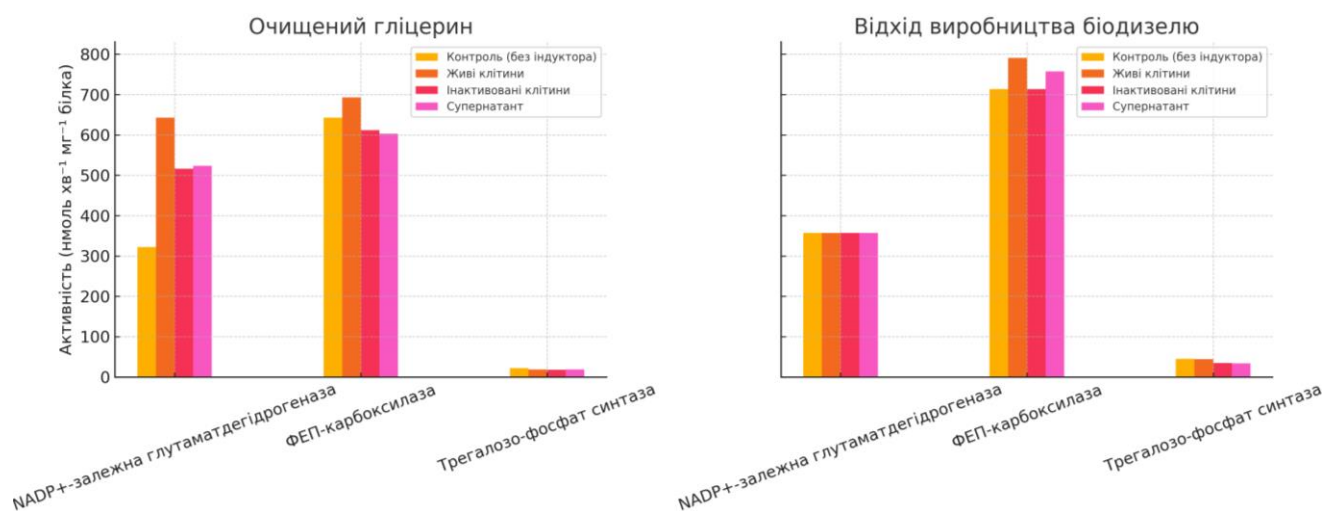


Рис. 3.12 Вплив *Enterobacter cloacae* C-8 на активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7241

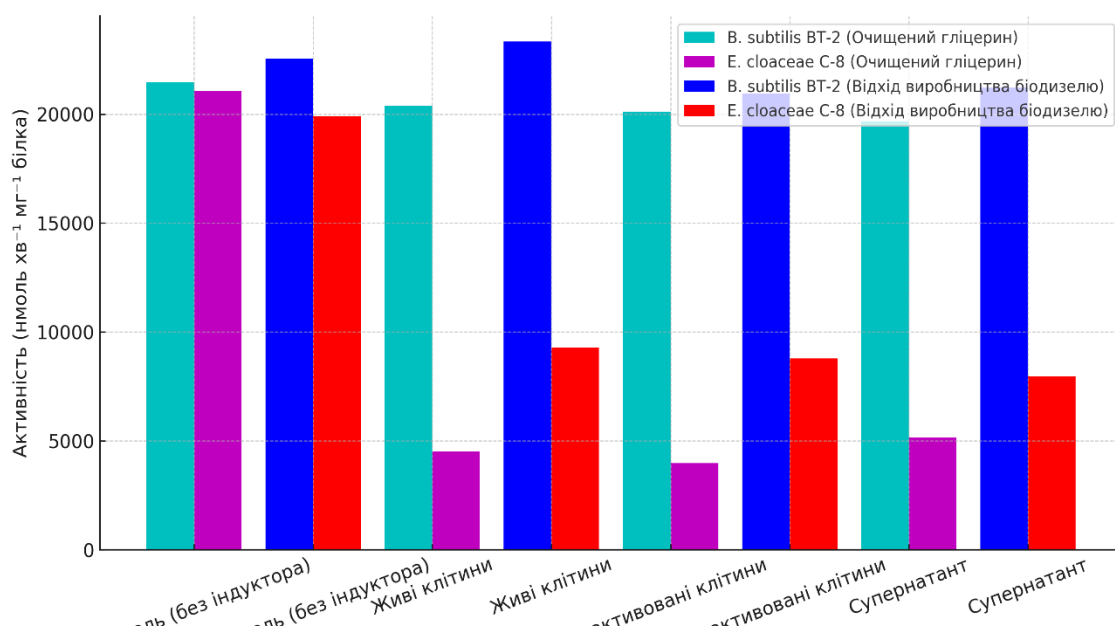


Рис. 3.13 Активність ФЕП-синтетази поверхнево-активних речовин

***Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 у присутності прокаріотичних індукторів**

Іншу динаміку змін активності ферментів зафіксовано при використанні технічного гліцерину як субстрату (див. рис. 3.12). Внесення прокаріотичних індукторів не впливало на активність NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази, яка залишалася на рівні контрольних значень. Аналогічно, не зумовлювало значних змін у функціонуванні ФЕП-карбоксилази та трегалозофосфатсинтази в клітинах *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (див. рис. 3.12).

Висновки до розділу 3

Встановлено, що незалежно від фізіологічного стану прокаріотичних індукторів (*B. subtilis* БТ-2 або *E. cloacae* С-8) антибактеріальна та антифунгальна активність синтезованих поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 збільшувалася, в деяких випадках, до кількох разів.

Використання відходів виробництва біодизелю як альтернативного субстрату для синтезу ПАР процудента ІМВ В-7241, дозволило не тільки зменшити забруднення навколишнього середовища та зменшити вартість синтезуємих вторинних метаболітів, а й підвищити антимікробну активність досліджуваного кінцевого продукту.

Встановлено, можливість інтенсифікації антиадгезивної активності та здатності до руйнування бактеріальних та дріжджових біоплівочок досліджуваних ПАРА. *calcoaceticus* ІМВ В-7241 за рахунок внесення клітин *B. subtilis* БТ-2 та *E. cloacae* С-8 як індукторів у різному фізіологічному стані (живі клітини, інактивовані клітини, або відповідний супернатант). Обрані абіотичні поверхні як нержавіюча сталь, кахель, чи лінолеум котрі є широко розповсюдженими у медичних закладах, дозволить в майбутньому допомогти у вирішенні питань резистентності патогенних мікроорганізмів, зокрема щодо дріжджів роду *Candida*.

Низькі ефективні концентрації (до 640 мкг/мл) робочих препаратів ПАР та комплексна (антимікробна, антиадгезивна, антибіоплівкова) активність може дозволити використання даних ПАР як дезінфікуючих та/чи антибіоплівкових препаратів у сфері охорони здоров'я.

РОЗДІЛ 4. БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241, СИНТЕЗОВАНИХ В РІЗНИХ УМОВАХ КУЛЬТИВУВАННЯ ЗА НАЯВНОСТІ ЕУКАРІОТИЧНИХ ІНДУКТОРІВ

Внутрішньолікарняні інфекції, становлять значну проблему для громадського здоров'я. Серед патогенних мікроорганізмів особливу увагу привертають гриби роду *Candida*. Види *Candida*, в тому числі *Candida albicans* та інші види, такі як *Candida glabrata* та *Candida parapsilosis*, є поширеними причинами внутрішньолікарняних інфекцій, зокрема, інфекцій крові та катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів (Muzaheed та ін., 2022).

Небезпечним є поява мультирезистентних форм *Candida*, зокрема *Candida auris*, яка була описана як швидко поширюваний внутрішньолікарняний патоген. В огляді 2020 року підкреслено її мультирезистентність, що ускладнює лікування та практику інфекційного контролю (Jeffery-Smith та ін., 2017). Кандидозні інфекції асоціюються з високим рівнем смертності: за даними дослідження 2022 року, смертність від кандидемії (збудник *Candida albicans*) серед пацієнтів з COVID-19 становила 69,2%. Застосування протигрибкових препаратів знизило смертність, але проблеми залишаються, особливо з резистентними штамми (Altinkaya Çavuş & Sav, 2022).

Одним із підходів до підвищення ефективності існуючих протигрибкових сполук є використання поверхнево-активних речовин. Наприклад, дослідження 2024 року, присвячене комбінаторній терапії, показало, що поверхнево-активні речовини можуть посилювати активність протигрибкових пептидів, таких як амфотерицин В, забезпечуючи подвійний механізм дії, руйнуючи мембрани, в той час як протигрибкова сплука впливає на клітини грибків (Lu та ін., 2024).

Інтерес до ПАР як антимікробних засобів зумовлений їхнім унікальним механізмом дії, який полягає в порушенні цілісності цитоплазматичної мембрани мікроорганізмів. Таке фізичне порушення практично унеможливлює появу стійких мікроорганізмів, оскільки воно не спирається на специфічні метаболічні шляхи, які можуть бути змінені (Lu та ін., 2024). У роботі 2018 року описано, як катіонні ПАР взаємодіють з негативно зарядженими клітинними стінками грибів, що призводить до

руйнування мембрани і загибелі клітин. Цей механізм ефективний проти широкого спектру грибків, включаючи види *Candida*, шляхом зміни заряду клітинної поверхні та спричинення витоку внутрішньоклітинного вмісту (Fait та ін., 2019).

Мікробні поверхнево-активні речовини, що виробляються такими мікроорганізмами, як *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., мають переваги, такі як біорозкладність і низька токсичність, що робить їх придатними для біомедичного застосування. Однак їхня біологічна активність може змінюватися за різних умов культивування. В наших попередніх дослідженнях було показано, що поверхнево-активні речовини (ПАР) *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності прокаріотичних біологічних індукторів як *B. subtilis* БТ-2 чи *E. cloacae* С-8 виявляли вищу антимікробну, антиадгезивну активність та здатність ПАР до руйнування біоплівки щодо спектру дріжджів та біактеріальних культур (Pirog та ін., 2024).

У рамках проведених досліджень висловили припущення, що антимікробна активність, антиадгезивна активність та здатність до руйнування біоплівки поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, можуть бути значно посилені завдяки додаванню до середовища культивування еукаріотичного індуктора — дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1. Передбачається, що це не лише покращить функціональні властивості поверхнево-активних речовин, а й одночасно підвищить їхню ефективність у боротьбі з дріжджовими патогенними мікроорганізмами, такими як ті, що викликають інфекції, забезпечуючи перспективний підхід до розробки нових біологічно активних препаратів.

4.1. Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *A. calcoaceticus* IMV B-7241 за внесення у середовище *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1

Дослідження, проведене на початковому етапі, мало на меті з'ясувати, як стан індуктора впливає на регулювання антимікробних властивостей поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих штамом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 під час культивування на гліцерині різного ступеня чистоти. Результати, представлені на

рисунках 4.1, 4.2, ілюструють антибактеріальну та антифунгальну активність ПАР, отриманих за участю дріжджового індуктора у різному фізіологічному стані.

Встановлено, що ПАР, синтезовані штамом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 проявляли найвищу антибактеріальну активність, за внесення живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1. Попереднє введення дріжджових клітин у середовище з очищеним гліцерином або відходами виробництва біодизелю сприяло синтезу ПАР, мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) яких для таких тест-культур, як *Enterobacter cloacae* С-8, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Bacillus subtilis* БТ-2 та *Proteus vulgaris* ПА-12, виявилися в 9–80 раз нижчими порівняно з ПАР, отриманими без індуктора. За присутності дріжджового супернатанту синтезовані ПАР мали МІК, що були в 5–50 разів нижчими, ніж у ПАР, отриманих без додавання індуктора (рис. 4.1). Натомість інактивовані клітини дріжджів виявилися найменш дієвими серед досліджених індукторів: антимікробна активність ПАР, утворених за їхньої участі, для більшості тест-культур була в 3–30 разів меншою за контрольні значення.

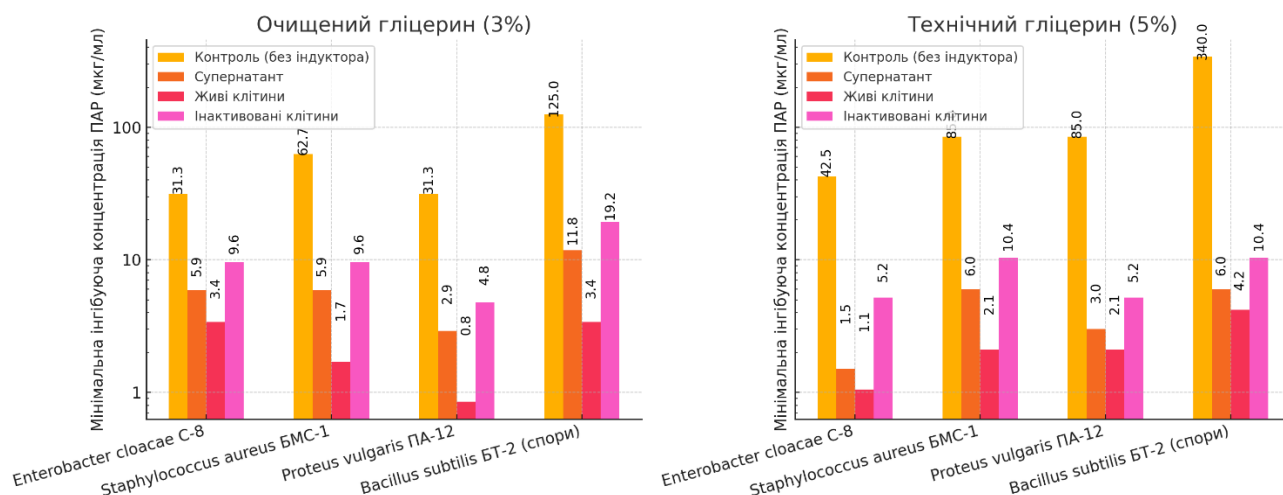


Рис. 4.1 Вплив дріжджових клітин на антибактеріальну активність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині різного ступення очищення

Схожі закономірності можна спостерігати в антифунгальній активності досліджуваних поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, за культивування з дріжджовими клітинами *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 у різних фізіологічних станах (рис. 4.2). ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 одержані за живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 виявилися найбільш ефективними антифунгальними препаратами: встановлені значення мінімальних

інгібуючих концентрацій щодо тест-культур *Candida albicans* Д-6 та *Candida tropicalis* РЕ-2 становили 0.85-3.4 мкг/мл та були нижчими за МІК ПАР одержаних без індукторів. ПАР одержані за використання інактивованих клітин та супернатанту призводили до майже однакового зниження МІК досліджуваних дріжджових культур, знижуючі показники у 17 - 45 разів (див. Рис. 4.2).

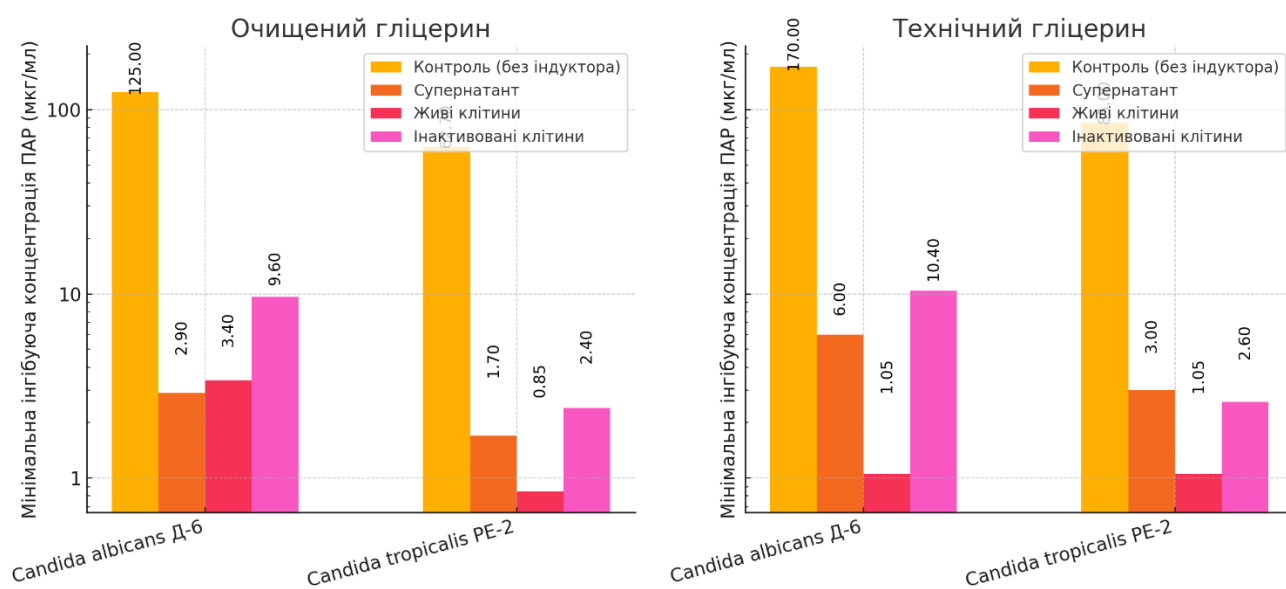


Рис. 4.2 Антифунгальна активність ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за внесення дріжджового індуктора у середовище культивування продуцента

Обговорення отриманих результатів. У наявних наукових джерелах більшість досліджень зосереджені на кількісних значеннях синтезуюмих антимікробних сполук. Слід також зазначити, що кількість досліджень, присвячених вивченню впливу еукаріотичних індукторів у різних фізіологічних станах (як живих, так і інактивованих клітин) на синтез антимікробних метаболітів, є значно меншим за використання прокаріотичних індукторів.

Серед даних робіт більшість зосереджена на дослідженні використання інактивованих (піддані термічній обробці або автоклавуванню) клітин (Ramchandran та ін., 2020; Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018), життєздатних мікроорганізмів (Luti & Yonis, 2013) та значно рідше, через складність отримання та зберігання стабільних препаратів, використовують супернатант після центрифугування індукторів (Shen та ін., 2020; Fouad & Khalid, 2016).

Дослідники *Ramchandran* та ін., 2020 встановили, що додавання інактивованих клітин *Candida albicans* SC 5314 до культури *B. subtilis* RLID12.1 призводило до тричотириразового збільшення концентрації циклічних ліпопептидів (AF3 і AF5). Зазначені сполуки проявляли високу протигрибкову активність щодо *Candida auris*, а їхні мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) варіювали в межах 4–16 мкг/мл.

Наприклад, у 2015 році у дослідженні *Mahmoud* та ін. (2015) було встановлено, що додавання інактивованих клітин *Saccharomyces cerevisiae* (2–3 %, об'ємна частка) до поживного середовища, в якому культивувався *Serratia marcescens* S23, сприяло 7–9-кратному підвищенню синтезу продигіозину, порівняно з контрольними показниками для цього штаму.

У дослідженні *Luti* та ін. (2018) було продемонстровано, що додавання інактивованих клітин *S. cerevisiae* сприяло підвищенню концентрації продигіозину у *S. marcescens* (штам не зазначено) у 1.3 -2 рази, порівняно з контролем без індуктора.

Згідно з дослідженням *Luti & Yonis* (2013), за наявності живих клітин дріжджів *S. cerevisiae*, концентрація феназину, синтезованого *P. aeruginosa*, зростала у 1,8 – 2,5 разів порівняно з умовами культивування без індукторів. Встановлено також антимікробну активність феназину щодо клітин-індукторів *S. cerevisiae*, що проявлялося у формуванні зон затримки росту тестових культур діаметром 4,3 мм відповідно.

У дослідженні *Shen* та ін. (2020) встановлено, що додавання супернатанту мікроміцета *P. chrysogenum* AS3.5163 до поживного середовища для культивування *S. natalensis* HW-2 сприяло підвищенню рівня синтезу антибіотику натаміцину майже у аівтора рази, на відміну від монокультури продуцента. Це зростання було зумовлене надекспресією специфічного гена у продуценті.

Згідно з дослідженням *Fouad & Khalid* (2016), внесення супернатанту після культивування мікроміцета *A. niger* (штам не наведено) (2–3%, об'ємна частка) або дріжджів *S. cerevisiae* (штам не наведено) (3%, об'ємна частка) у середовище культивування продуцента бактеріоцинів *B. subtilis* NK16 призводило до 2–4-кратного збільшення рівня синтезу кінцевого продукту порівняно з контрольними умовами без використання індукторів. Отримані бактеріоцини продемонстрували високу

антимікробну активність щодо тест-культур (*S. aureus* ATCC 43090, *Bacillus* sp. ATCC 6633) та клітин індукторів *A. niger* (штам не наведено) та *S. cerevisiae* (штам не наведено), що підтверджувалося формуванням зон затримки росту діаметром 21-27 мм.

Дослідження закордонних вчених (Ramchandran та ін., 2020; Shen та ін., 2020; Fouad & Khalid, 2016; Mahmoud та ін., 2015; Luti та ін., 2018; Luti & Yonis, 2013) зосереджені на підвищенні синтезу антимікробних сполук за використання еукаріотичних індукторів різного фізіологічного стану. В той же час, є дослідження Pirog, Kliuchka & Kliuchka, 2022 та Pirog та ін, 2020, що стосуються впливу бактеріальних індукторів на ці процеси.

Так, у роботі Pirog, Kliuchka & Kliuchka (2022) було встановлено, що культивування *Rhodococcus erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 *E. coli* ІЕМ-1 та сприяло підвищенню антимікробної активності отриманих ПАР: МІК щодо бактеріальних тест-культур (*E. coli* ІЕМ-1, *S. aureus* БМС-1, *B. subtilis* БТ-2) були у 8–30 рази нижчими порівняно з аналогічними показниками для ПАР, синтезованих без додавання індукторів.

Крім того, у дослідженні Pirog та ін. (2020a) було виявлено, що культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у середовищі із соняшниковою олією за присутності як живих, так і інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2 стимулювало синтез біосурфактантів, які мали значно вищу антимікробну активність: МІК щодо тестових культур, *B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1 у 3-6 рази перевищувала відповідні показники ПАР, отриманих без індукторів.

Можна підвести підсумок, що одержані результати (див. рис. 4.1 і 4.2) продемонстрували, що МІК поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 синтезованих за наявності дріжджових клітин індуктора є порівняним, а подекуди і нижчим, ніж показано у роботах із ПАР штамів *N. vaccinii* ІМВ В-7405 та *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017.

4.2. Здатність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності еукаріотичних індукторів, до руйнування біоплівок

Дослідження показують, що інфекції, пов'язані з біоплівками, становлять приблизно 80% хронічних і рецидивуючих інфекцій у людей. Згідно з даними Національних інститутів охорони здоров'я у 2022 році стверджується, що до 80% мікробних інфекцій і понад 60% внутрішньолікарняних інфекцій спричиняються біоплівками (Devanga Ragupathi та ін., 2022). Близьке розташування клітин у біоплівках разом із міжклітинною взаємодією підвищує їхню стійкість до антимікробних речовин. Молекулярні фактори, такі як експресія специфічних генів і білків, додатково сприяють цій стійкості. Докази схилиються до того, що біоплівки демонструють несприйнятливість до антибіотиків через зменшення проникнення ліків, змінений мікробний метаболізм і наявність персистентних клітин. Ця резистентність є ключовою причиною невдач лікування та рецидивів інфекції, особливо при інфекціях, пов'язаних з пристроями, такими як катетери, імпланти та протези (Zhao, Sun & Liu, 2023).

Лікування інфекцій, пов'язаних з біоплівками, ускладнюється їхньою стійкістю до звичайної антибіотикотерапії. Дослідження все більше зосереджуються на інноваційних стратегіях: обговорюється вивчення природних сполук, таких як антимікробні препарати рослинного походження, а також комбіновані методи лікування, що руйнують матрицю біоплівки і підвищують ефективність антибіотиків (Mendhe та ін., 2023).

Попередні дослідження продемонстрували, що додавання еукаріотичних індукторів до культурального середовища дозволяє контролювати антибактеріальну та протигрибкову ефективність поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *A. calcoaceticus* IMB B-7241, проти різноманітних тест-культур. Ціллю подальших експериментів стало вивчення впливу цих ПАР на біоплівки бактерій і дріжджів, що належать до відповідних тест-культур.

Узагальнені результати досліджень (див. рис. 4.3-4.8) руйнування біоплівок бактерій і дріжджів під впливом поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих

у процесі введення клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 до культурального середовища *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, при використанні як субстрату гліцерину різного ступеня очистки.

Дослідження показали, що ПАР, отримані за участі живих дріжджових клітин у середовищі культивування з очищеним гліцерином або відходами виробництва біодизелю, продемонстрували найвищу ефективність проти більшості протестованих культур. Ефективність руйнування біоплівки досліджених тест-культур препаратами ПАР була вищою у 1,5–3,5 раза порівняно з речовинами, отриманими без індуктора (див. рис. 4.3–4.8).

Застосування препаратів ПАР (6,8–880 мкг/мл), синтезованих у присутності живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 або їхнього супернатанту в культуральному середовищі з очищеним гліцерином чи відходами виробництва біодизелю, забезпечило найвищий рівень руйнування біоплівки *B. subtilis* БТ-2: на 9–37 % при використанні живих клітин і на 5–34 % при використанні відповідного супернатанту (див. Рис. 4.3).

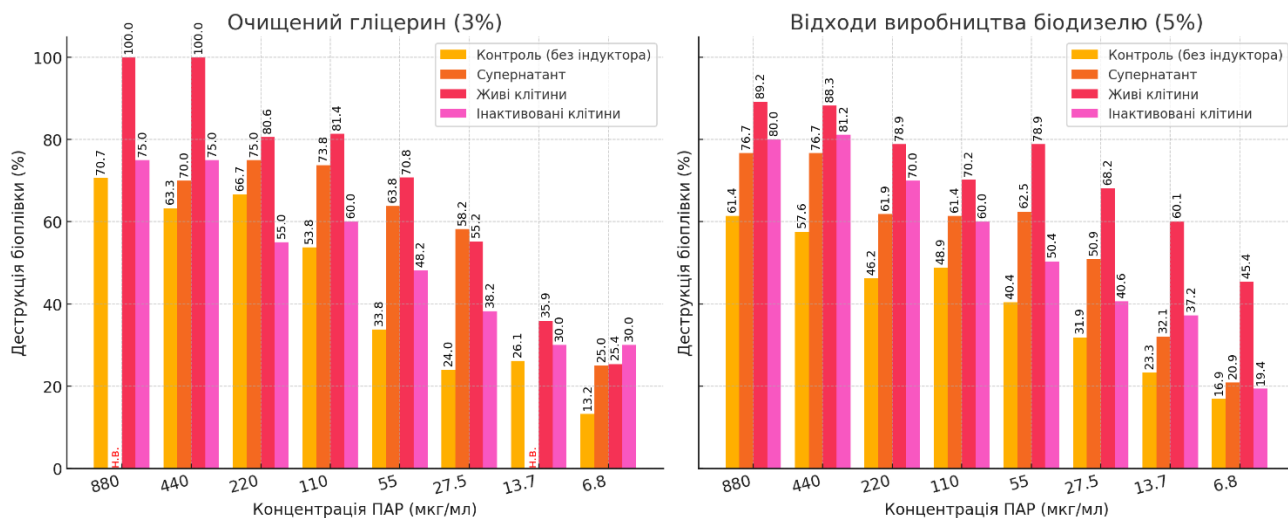


Рис. 4.3 Деструкція біоплівки грампозитивного штаму БТ-2 під дією ПАР, отриманих у присутності *S. cerevisiae* БТМ-1

Препарати ПАР за внесення дріжджових індукторів були ефективнішими щодо руйнування біоплівки *S. aureus* БМС-1 за концентрації ПАР 220–880 мкг/мл, при чому тільки за участі живих клітин індуктора ступінь руйнування вдалося збільшити до 90 % за вирощування ПАР на очищеному гліцерині. Заміна субстрату на відходи

виробництва біодизелю вдалося підвищити антибіоплівкову активність препаратів ПАР (440-880 мкг/мл) у 1.5-1.8 разів за використання живих клітин та супернатанту *S. cerevisiae* БТМ-1 (див. Рис. 4.4).

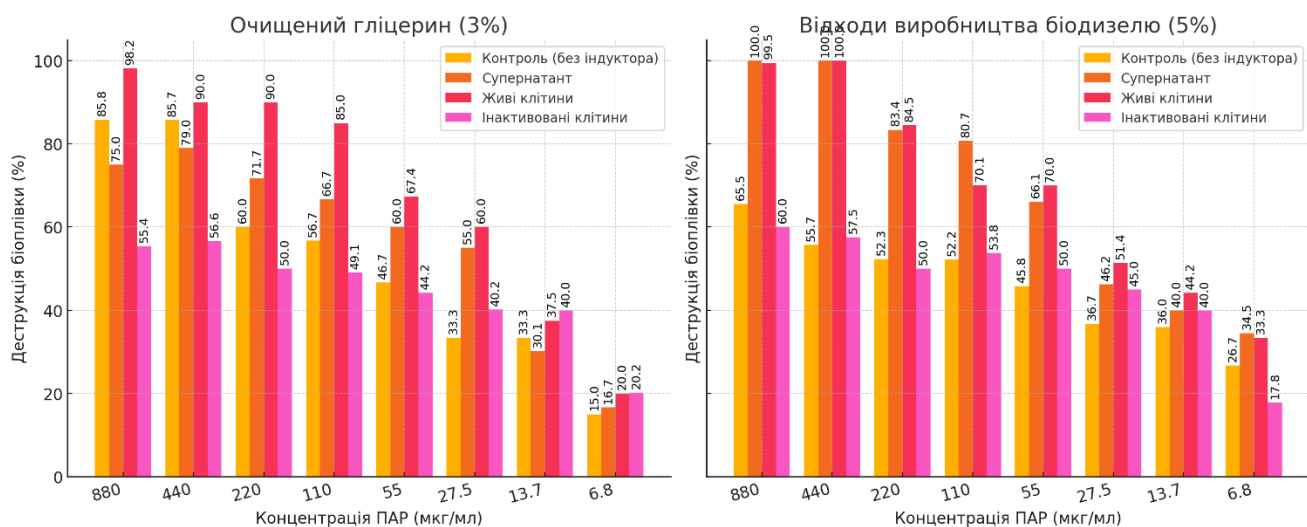


Рис. 4.4 Ефект еукаріотичного індуктора на здатність ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, до руйнування біоплівки *Staphylococcus aureus* BMC-1

Встановлено, що незалежно від типу субстрату, синтезовані поверхнево-активні речовини ефективно руйнували біоплівки грамнегативних тест-культур за наявності еукаріотичного індуктора. Варто зазначити, що найвищий відсоток руйнування біоплівок як *E. cloacae* C-8 так і *P. vulgaris* ПА-12 спостерігали у разі використання поверхнево-активних речовин, синтезованих за наявності супернатанту та живих клітин *S. cerevisiae* БТМ-1 (див. рис. 4.5, 4.6). Ці результати узгоджуються з даними щодо антимікробної активності синтезованих ПАР штамом *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (див. розділ 4, пункт 4.1), і підтверджують зв'язок між антимікробною активністю та рівнем руйнування біоплівок.

Зокрема, рівень деструкції біоплівки *E. cloacae* C-8 за дії ПАР, синтезованих у присутності живих клітин дріжджів і супернатанту в обох субстратах, був у середньому на 15–30% і 5–30% вищим, у порівнянні з використанням ПАР без індуктора, а *P. vulgaris* ПА-12 – у середньому на 9-20 % і 4-12 % вищим відповідно (див. Рис. 4.5-4.6).

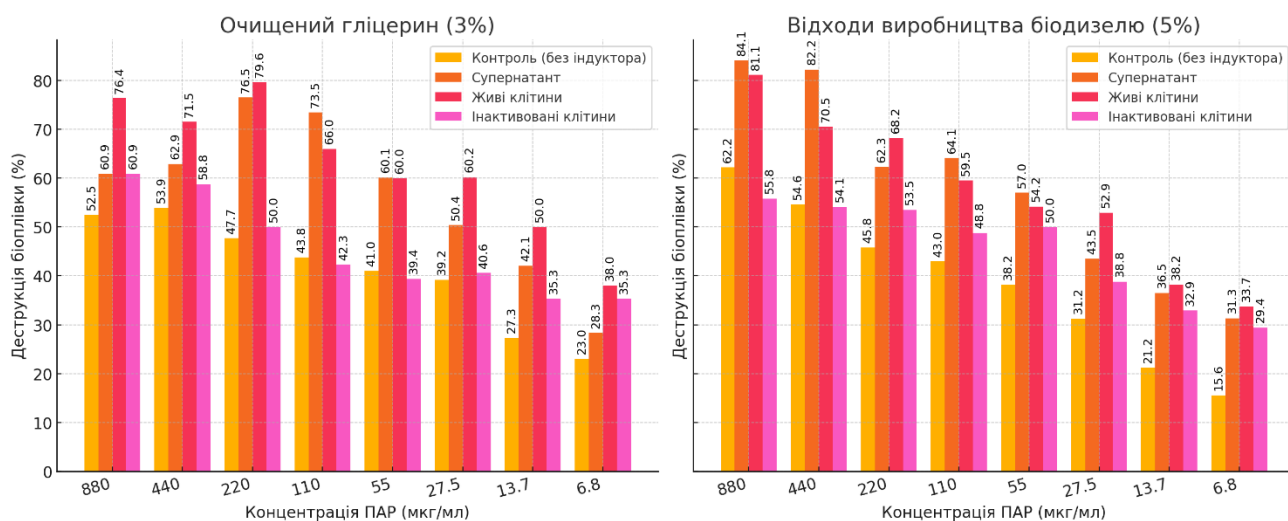


Рис. 4.5 Деструкція біоплівки *Enterobacter cloacae* C-8 під впливом ПАР, одержаних штамом IMB B-7241 у присутності *S. cerevisiae* BTM-1

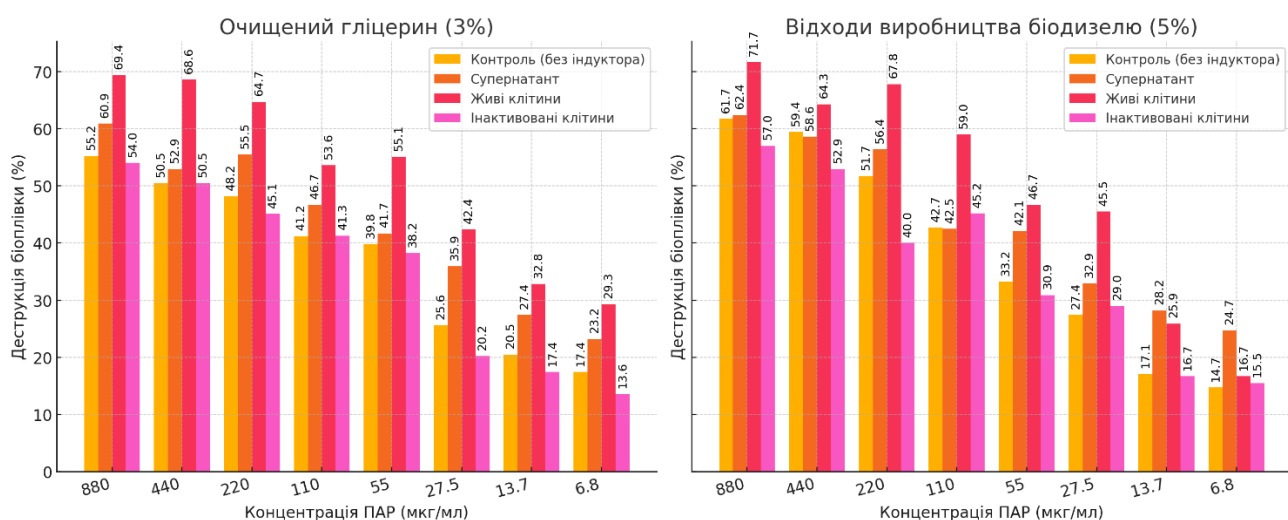


Рис. 4.6 Рівень руйнування біоплівок грамнегативного штаму ПА-12 під впливом ПАР, синтезованих за участю дріжджового індуктора

Було встановлено, що максимальна ефективність руйнування біоплівок *Candida albicans* Д-6 та *Candida tropicalis* PE-2 досягалася за обробки ПАР за участі живих клітин дріжджового індуктора або супернатанту синтезованих на відходах виробництва біодизелю. Зокрема, під впливом таких препаратів ступінь деструкції біоплівки *C. albicans* Д-6 був у середньому на 5 – 35 % вищим, ніж за дії ПАР, отриманих без індуктора (див. рис. 4.7). Деструкція біоплівки *Candida tropicalis* PE-2 за дії ПАР, синтезованих за участю живих клітин або супернатанту *S. cerevisiae* BTM-1, перевищувала ефект препаратів, отриманих без індуктора, на 10 – 50%, та за

концентрацій ПАР 220-880 мкг/мл повністю руйнувала утворені біоплівки тест-культур (див. рис. 4.8).

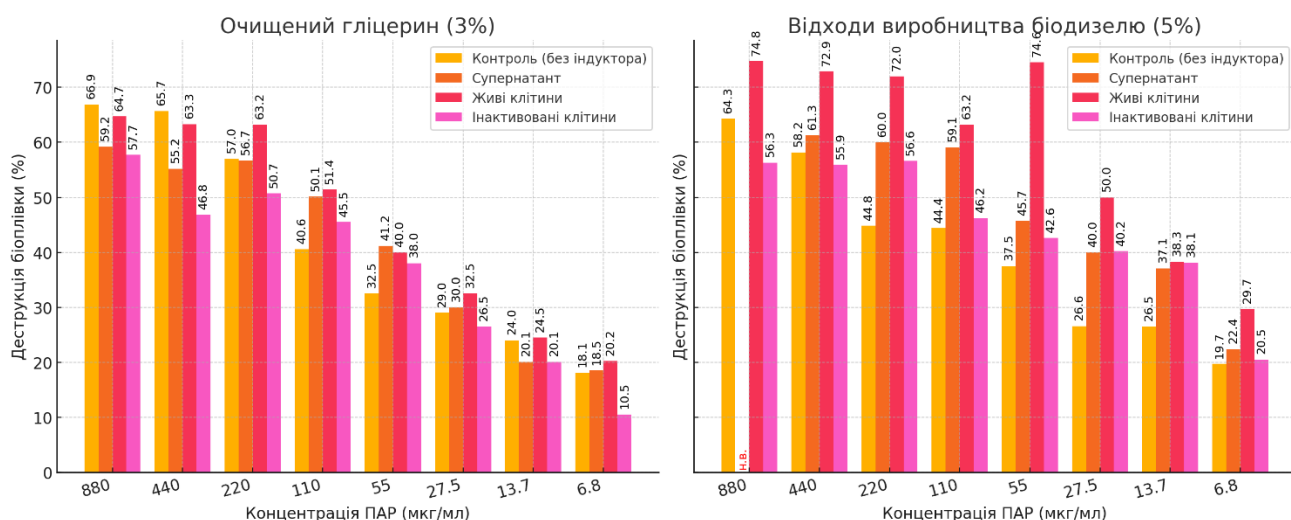


Рис. 4.7 Вплив *S. cerevisiae* БТМ-1 на ступінь руйнування біоплівок *Candida albicans* Д-6 ПАР штамом IMB B-7241

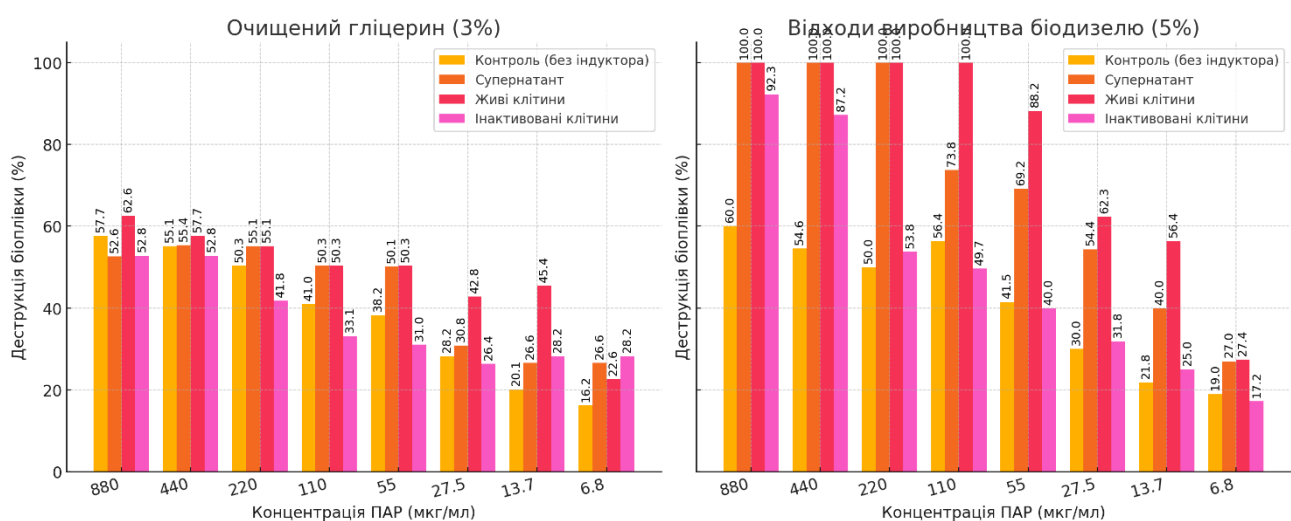


Рис. 4.8 Ефект внесення *S. cerevisiae* БТМ-1 у середовище культивування ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на ступінь руйнування біоплівки *Candida tropicalis* PE-2

Обговорення отриманих результатів. У літературі наявні поодинокі праці, що зосереджені на дослідженні впливу біологічних індукторів на синтез антимікробних метаболітів, і ц всіх роботах використовують прокаріотичні індуктори (Hifnawy S та ін., 2020; Pirog та ін., 2020a; Pirog та ін., 2020b).

У 2020 році у роботі ((Hifnawy S та ін., 2020) встановили, що ко-культивування актиноміцетів *A. sp.* EG49 та *M. sp.* UR56 дозволило отримати нові метаболіти – фенкоміцин, туберміцин; N-(2-гідроксифеніл)-ацетамід та п-анізамід, які продемонстрували виражену антибіоплівкову дію проти *P. aeruginosa*, підвищивши ступінь руйнування біоплівок до 70—90 %.

У дослідженні (Pirog та ін., 2020a) було встановлено, що попереднє внесення індукторів у вигляді живих або інактивованих клітин *B. subtilis* БТ-2, *E. coli* ІЕМ-1 до середовища культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 сприяло синтезу поверхнево-активних речовин (ПАР), здатних ефективно руйнувати біоплівки індукторів *E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2 та бактеріальних тест-культур (*P. sp.* МІ-2, *S. aureus* БМС-1) становила на рівні 70–90%, що у 1,5–2 рази перевищувало аналогічні показники для ПАР, отриманих без індукторів.

В іншому дослідженні (Pirog та ін., 2020b), використовуючи інших продуцент ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 в якості біологічних індукторів також використовували живі клітини *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2, які додавали до середовища культивування продуцента. Встановили, що незалежно від фізіологічного стану клітин (вегетативні або спорові форми) та часу їхнього внесення (лаг-фаза чи експоненційна фаза), отримані ПАР проявляли високу антибіоплівкову активність, щодо біоплівки індуктора *B. subtilis* БТ-2: ступінь руйнування біоплівки був у 1,2-1.45 разів вищим ніж при застосуванні ПАР, отриманих без індукторів.

Одержані результати у ході наших досліджень (див. рис. 4.3-4.8), щодо впливу дріжджових індукторів на синтез ПАР корелюються з результатами щодо продуцентів ПАР *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 та *N. vaccinii* ІМВ В-7405. Не залежно від фізіологічного стану внесених дріжджових індукторів, ступінь руйнування біоплівок досліджуваних бактеріальних та дріжджових тест-культур, був вищим за відсутності останніх у середовищі культивування продуцентів. Проте, є потреба у подальших дослідженнях механізмів впливу біологічних індукторів та залежності їх стану на антибіоплівкові властивості досліджуваних поверхнево-активних речовин.

4.3. Вплив поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 одержаних за внесення у середовище *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 на прикріплення мікроорганізмів до абіотичних поверхонь

Бактеріальна адгезія суттєво впливає на стійкість до протимікробних препаратів та антибіотиків, насамперед через її роль у формуванні біоплівки. Біоплівки - це структуровані мікробні спільноти, укладені в позаклітинний матрикс, що забезпечують захист від антибіотиків та імунних реакцій організму. Було продемонструвало, що біоплівки, сформовані на силіконовій гумі без покриття, менш чутливі до гентаміцину порівняно зі слабо адгезійними організмами на полімерних покриттях щіток, які залишалися в вільному стані і були більш чутливими. Це свідчить про те, що адгезія полегшує перехід до стійкого стану, причому біоплівки до 1000 разів стійкіші за планктонні культури (Muszanska та ін, 2012).

У роботі 2019 року досліджували, як жорсткість матеріалу впливає на адгезію, і виявили, що *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* більше прилипають до м'якого полідиметилсилоксану, ніж до жорсткого, що свідчить про те, що певну роль відіграє поверхнева механіка. Проте фізіологічні наслідки, такі як зміни в експресії генів або метаболічній активності, залишаються менш вивченими (Straub та ін, 2019).

Тому необхідні дослідження, які відображають відповідні умови навколишнього середовища, типи бактерій і властивості поверхні, щоб розробити ефективні та надійні рішення проти біоплівок. Створення наноматеріалів на поверхнях і їх гібридний підхід із застосуванням бактерицидних сполук мають великі перспективи для забезпечення більш досконалих рішень для забруднення, пов'язаного з біоплівками, у медичних або промислових умовах (Zheng та ін., 2021).

У попередніх дослідженнях, нами було встановлено, що внесення прокаріотичних індукторів у середовище культивування поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, може вплинути на антиадгезивну дію досліджуваних ПАР (див. розділ 3, пункт. 3.3). Тому у подальших дослідженнях, ми виявляли як впливатиме заміна типу індуктора на еукаріотичний мікроорганізм, а саме дріжджі *S. cerevisiae* БТМ-1.

Дані, представлені на графіках (див. рис. 4.9–4.11), свідчать про те, що додавання дріжджового індуктора до середовища, яке містить як очищений гліцерин, так і відходи біодизельного виробництва, сприяє утворенню ПАР з підвищеною антиадгезивною активністю. Зокрема, рівень адгезії ПАР, отриманих у присутності живих або інактивованих клітин, а також супернатанту *S. cerevisiae* БТМ-1 в середньому у 1,3 разів нижче порівняно з рівнем адгезії ПАР, синтезованих без індуктора.

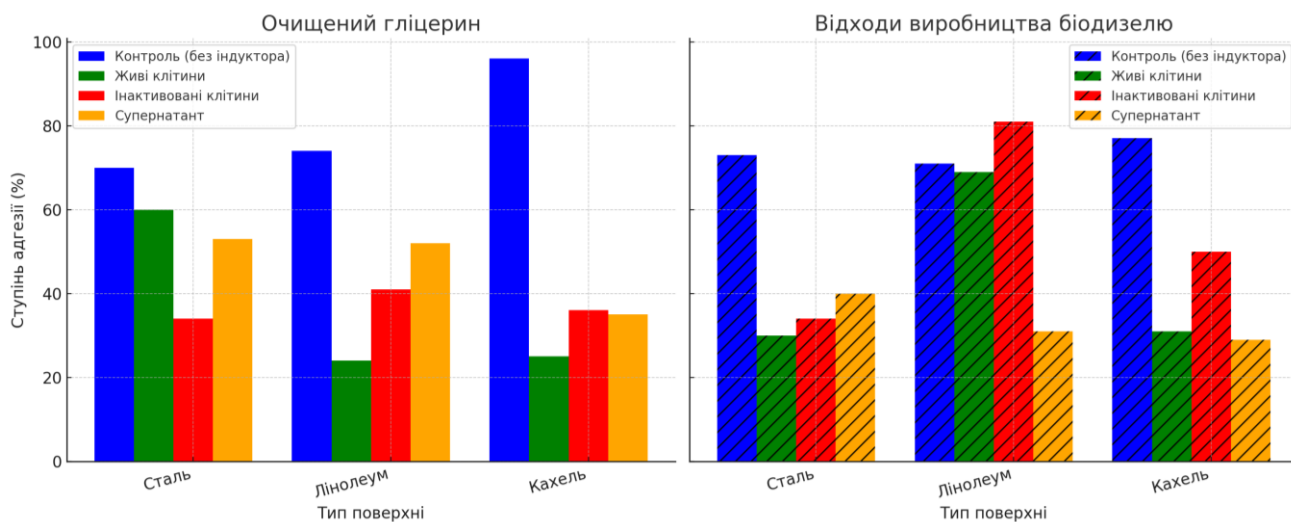


Рис. 4.9 Ступінь адгезії *Proteus vulgaris* ПА-12 на сталі, лінолеумі та кахлі під дією ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності *S. cerevisiae* БТМ-1

Ступінь адгезії *Proteus vulgaris* ПА-12 до сталі, лінолеуму та кахелю вдалося зменшити за обробки препаратами ПАР (88 мкг/мл), одержаними на очищеному гліцерині: за додавання живих клітин індуктора у 1,2-3,8 разів; за додавання супернатанту у 1,3-2,7 разів; за додавання інактивованих клітин у 1,8-2,7 разів (див. Рис. 4.9). На відходах виробництва біодизелю одержали схожі результати, окрім адгезії *P. vulgaris* ПА-12 до лінолеуму: тільки внесення супернатанту до середовища культивування ПАР зменшувало рівень адгезії клітин тест-культури у 2,2 рази за обробки відповідними ПАР.

Рівень адгезії клітин *B. subtilis* БТ-2 до кахелю за обробки ПАР, синтезованих із використанням очищеного гліцерину та наявності всіх типів індуктора *S. cerevisiae* БТМ-1, був на 5–60 % нижчим порівняно з впливом поверхнево-активних речовин,

отриманих без застосування індукторів. Використання живих клітин та супернатанту при одержанні препаратів ПАР (88 мкг/мл), призводило до зменшення адгезії бактерій на лінолеумі на 10–64% та 20–65% відповідно, порівняно з показниками, отриманими для ПАР, синтезованих без індукторів. Щодо адгезії клітин *B. subtilis* БТ-2 до сталі, найвища антиадгезивна активність препаратів ПАР була представлена за синтезу на очищеному гліцерині та за участі супернатанту індуктора, зменшуючи рівень адгезії клітин тест-культури у 4 рази, а за внесення живих клітин та інактивованих, відповідні ПАР зменшували адгезію клітин *B. subtilis* БТ-2 майже удвічі (рис. 4.10).

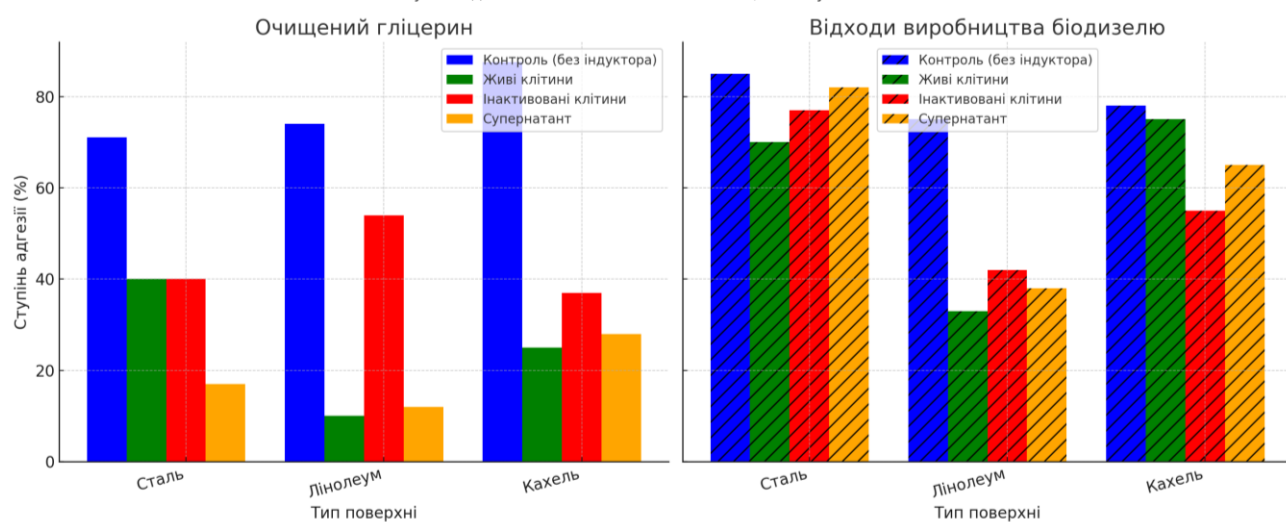


Рис. 4.10 Адгезія *Bacillus subtilis* БТ-2 до абіотичних поверхнях після обробки ПАР *A. calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності дріжджових індукторів

Інактивовані клітини продемонстрували найвищу ефективність як індуктори для зниження адгезії *C. albicans* Д-6 при обробці ПАР (22–88 мкг/мл), отриманих із очищеного гліцерину (див. рис. 4.11). Використання таких індукторів дозволило зменшити прикріплення дріжджових клітин у середньому на 40% у порівнянні з показниками, зафіксованими для ПАР, синтезованих без їхньої участі.

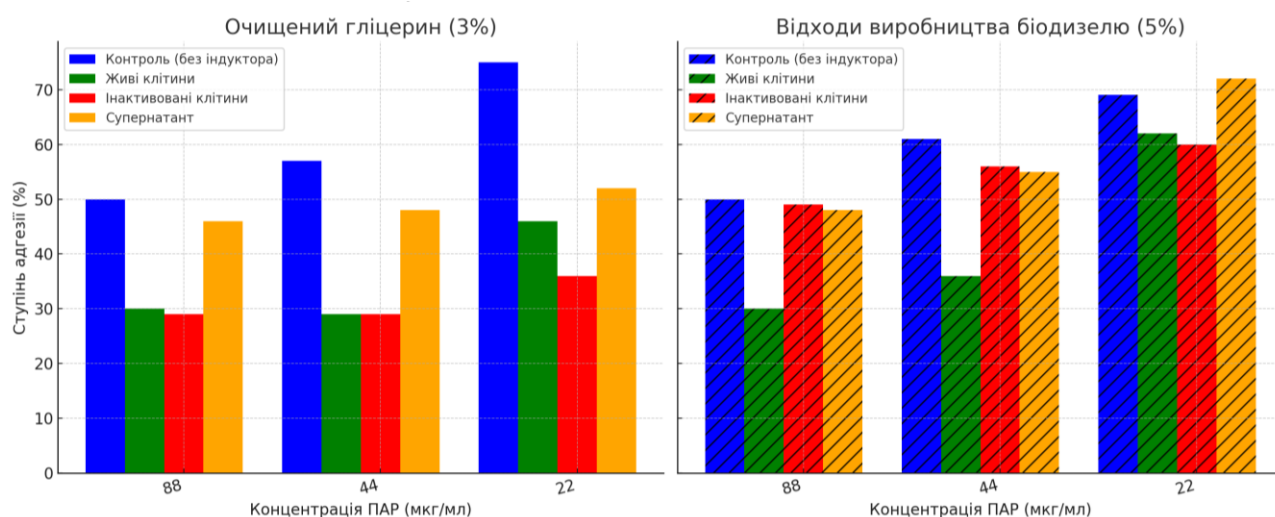


Рис. 4.11 Адгезія *Candida albicans* Д-6 до кахелю за обробки ПАР А. *calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності *S. cerevisiae* БТМ-1

Подібну тенденцію відзначали при застосуванні ПАР (22–88 мкг/мл), утворених за наявності життєздатних клітин у середовищі, що містило як очищений гліцерин, так і відходи біодизельного виробництва. Так, обробка такими препаратами ПАР сприяла зниженню адгезії тестової культури на 5–25% у порівнянні з відповідними значеннями для ПАР, отриманих без додавання індукторів. Аналогічні показники показували препарати ПАР (44–88 мкг/мл) за внесення дріжджового супернатанта, зменшуючи рівень адгезії у 1,1-1,2 рази, при синтезі на очищеному гліцерині (див. рис. 4.11).

Обговорення отриманих результатів. У літературі наявні роботи стосовно антиадгезивної та антибіоплівкової активності природних сполук чи ефірних масел (Klančnik та ін., 2021), проте, разом з тим не вдалося знайти інформацію стосовно впливу еукаріотичних індукторів на антиадгезивну активність прородних сполук, що можливо пов'язано з більшим інтересом до руйнування вже сформованих біоплівок мікроорганізмів, уникаючи дослідження впливу на мікроорганізми на початковому етапі формування біоплівок – адгезії клітин (див. розділ 4., пункт 4.2).

У наукових джерелах містяться відомості про вплив прокаріотичних клітин на антиадгезивні властивості поверхнево-активних речовин (ПАР) (Pirog та ін., 2020a; Pirog та ін., 2020b).

У ході досліджень, проведених Пирог, Скроцькою та Шевчук (2020), було встановлено, що ПАР, синтезовані *N. vaccinii* IMB В-7405 у присутності живих клітин

та інактивованих *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2, мали вищу антиадгезивну активність, так рівень адгезії зазначених тест-культур на полістирольній поверхні після обробки препаратами ПАР був у середньому в 1, 5 разів нижчим у порівнянні з показниками, зафіксованими після обробки ПАР, синтезованих у середовищі без індукторів.

В іншому дослідженні (Pirog та ін., 2020b) було описано використання клітин цих же індукторів на регуляцію біологічної активності ПАР, синтезованих *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017. Було встановлено, що адгезія тест-культур бактерій *S. aureus* БМС-1 та дріжджів *C. albicans* Д-6 до кахелю, скла та сталі, попередньо оброблених ПАР, синтезованими *R. erythropolis* ІМВ Ас-5017 у присутності інактивованих клітин бактеріальних індукторів був у 2-4 рази нижчим, порівняно з показниками адгезії бактеріальних та дріжджових клітин після обробки препаратами ПАР, отриманими без участі індукторів.

Не зважаючи на відсутність інформації у наукових джерелах щодо антиадгезивної активності мікробних вторинних метаболітів за внесення еукаріотичних індукторів у середовище культивування продуцента метаболіту, отримані нами результати та порівняння з результатами робіт стосовно прокаріотичних індукторів (Pirog та ін., 2020a; Pirog та ін., 2020b) свідчать про можливість використання ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності *S. cerevisiae* БТМ-1 як ефективних антиадгезивних агентів стосовно широко спектра мікробних тест-культур.

4.4. Активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності дріжджових індукторів

На заключному етапі експериментальних робіт досліджували вплив різних станів біологічних індукторів — живих клітин, інактивованих клітин та супернатанту дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1 — у культуральному середовищі з гліцерином різного рівня очищення на активність основних біосинтетичних ферментів, які відповідають за утворення аміно- та гліколіпідних поверхнево-активних речовин у *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241.

Представлені результати впливу еукаріотичних індукторів на активність ключових ферментів, що беруть участь у біосинтезі поверхнево-активних речовин у *A. calcoaceticus* IMB B-7241 за умов культивування (див. Рис. 4.12-4.13). Додавання різних типів дріжджових індукторів до середовища з очищеним гліцерином не спричиняло значних змін у активності ферментів, задіяних у синтезі гліколіпідів (ФЕП-синтетази, ФЕП-карбоксилази, трегалозофосфатсинтетази) у продуцентах поверхнево-активних речовин. Водночас активність NADP^+ -залежної глутаматдегідрогенази зростала у 1,5–2 рази порівняно з варіантом культивування штаму IMB B-7241 без індукторів (див. Рис. 4.12).

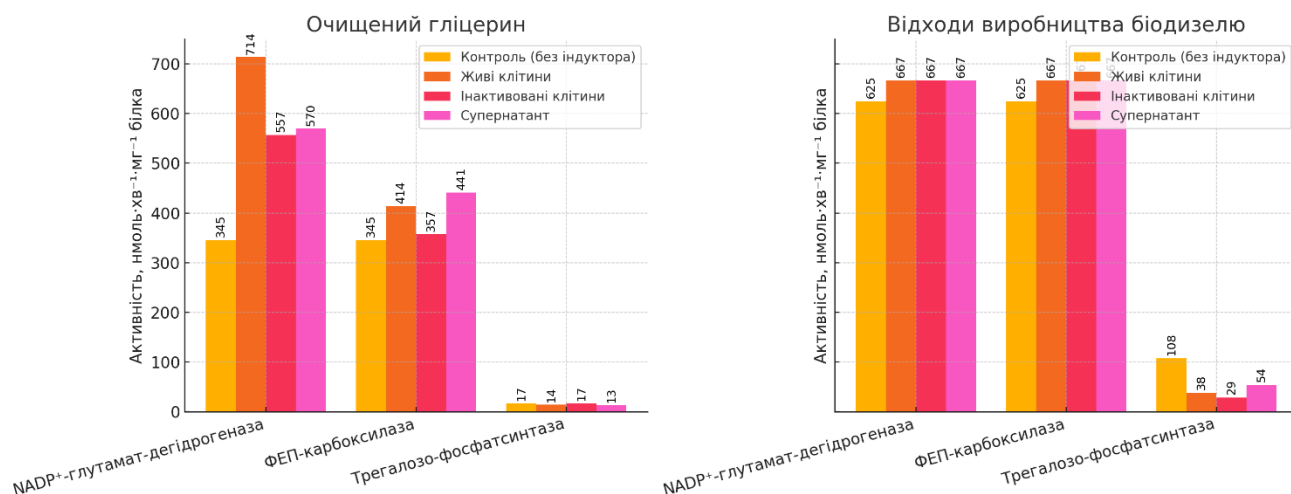


Рис. 4.12 Вплив *S. cerevisiae* БТМ-1 на активність ключових ферментів біосинтезу поверхнево-активних речовин штаму IMB B-7241

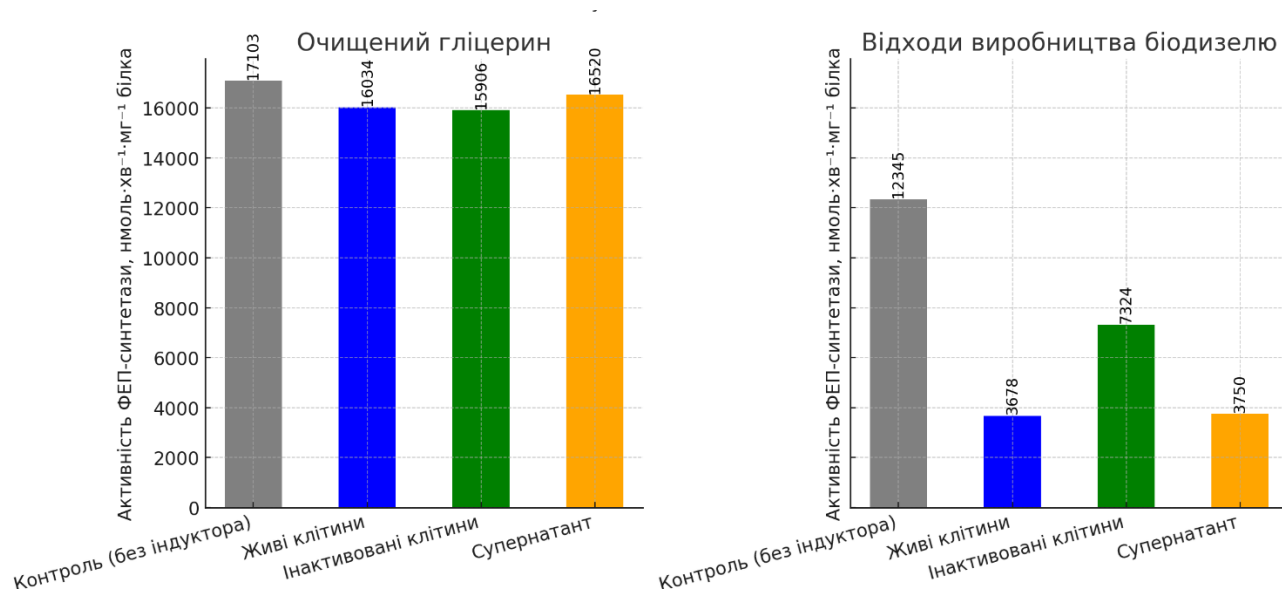


Рис. 4.13 Активність ФЕП-синтетази за синтезу ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за присутності дріжджового індуктора

При внесенні всіх типів еукаріотичних індукторів у середовище, що містило відходи виробництва біодизелю, профіль активності досліджуваних ферментів у клітинах *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (за винятком трегалозофосфатсинтази) нагадував зміни, що спостерігалися у присутності прокаріотичних індукторів (таблиця 3). Зокрема, активність NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази та ФЕП-карбоксилази залишалася на тому ж рівні, тоді як активність ФЕП-синтетази та трегалозофосфатсинтетази знижувалася у 1,7–3 та 2–3,5 раза відповідно (див. Рис. 4.12-4.13).

Висновки до розділу 4

Встановлено, що наявність дріжджового індуктора у середовищі культивування поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* IMB B-7241 майже не впливала на активність ключових ферментів біосинтезу задіяних у синтезі аміноліпідів, проте антимікробна активність синтезованих ПАР за внесення індукторів підвищувалася у декілька разів порівняно з контрольними значеннями ПАР, синтезованих без індукторів.

Крім цього, антиадгезивна активність та здатність до руйнування біоплівки синтезованих ПАР також підвищувалася за внесення живих клітин, інактивованих *S. cerevisiae* БТМ-1, або відповідного супернатанта. Проте, слід зауважити, що ефективність таких ПАР як антиадгезивних агентів за використання відходів виробництва біодизеля як джерела вуглецю була нижчою порівняно з ПАР, одержаними на очищеному гліцерині.

І навпаки, внесення всіх типів індукторів *S. cerevisiae* БТМ-1 у середовище культивування ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на відходах виробництва біодизелю дозволило дещо підвищити ступінь руйнування бактеріальних та дріжджових тест-культур, у порівнянні з ПАР одержаними на очищеному гліцерині.

ВИСНОВКИ

1. Антимікробна активність ПАР, синтезованих на очищеному гліцерині за наявності про- (*E. cloacae* С-8, *B. subtilis* БТ-2) чи еукаріотичних (*S. cerevisiae* БТМ-1) індукторів у різному фізіологічному була у 1,2-1,5 рази вищою порівняно з активністю аналогічних препаратів, отриманих на технічному гліцерині. Антиадгезивна активність ПАР, синтезованих на очищеному гліцерині за використання дріжджових індукторів, була на 5-20 % вищою порівняно з використанням ПАР, одержаних на відходах виробництва біодизеля. Проте деструкція бактеріальних та дріжджових біоплівки тест-культур під впливом ПАР, утворених за наявності усіх досліджуваних індукторів у середовищі з відходами виробництва біодизеля, була у 1,1-1,7 разів вищою, ніж за обробки препаратами ПАР, одержаних у середовищі з очищеним гліцерином та індукторами.

2. Поверхнево-активні речовини, синтезовані *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у середовищі з гліцерином різного ступеня очищення і прокаріотичними індукторами у будь-якому фізіологічному стані мали значення мінімальних інгібуючих концентрацій щодо бактеріальних тест-культур у діапазоні 0,23-22 мкг/мл, що у кілька разів нижче, ніж без використання індукторів (МІК 2,8-40 мкг/мл). Використання як індуктора дріжджів *S. cerevisiae* БТМ-1 дозволило знизити мінімальні інгібуючі концентрації щодо бактеріальних тест-культур до 0,85-19,2 мкг/мл. ПАР, синтезовані *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 у середовищі з очищеним гліцерином чи відходами виробництва біодизелю за внесення про- або еукаріотичних індукторів знижували МІК щодо дріжджових тест-культур у 1,1–18,5 разів відповідно, порівняно з контролем.

3. Внесення всіх досліджуваних біологічних індукторів у середовище культивування продуцента ПАР сприяло підвищенню активності NADP⁺-залежної глутаматдегідрогенази – ферменту, який є ключовим у біосинтезі поверхнево-активних аміноліпідів. У присутності індукторів активність цього ферменту в клітинах *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 зростала у 1,5–2 рази порівняно з варіантом культивування штаму ІМВ В-7241 без них.

4. Ефективність руйнування бактеріальних і дріжджових біоплівок за обробки їх ПАР, синтезованими штамом ІМВ В-7241 на гліцерині різної якості (очищений, чи

технічний) за наявності у середовищі продуцента всіх біологічних індукторів, була у 1,1-2,5 разів вищою у порівнянні з встановленою для контрольних ПАР, одержаних без індукторів.

5. У разі використання ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на очищеному, чи технічному гліцерині за внесення прокаріотичних індукторів адгезія бактеріальних та дріжджових тест-культур на пластинках сталі, лінолеуму та кахелю була в 1,1-5,9 рази нижчою, ніж при використанні аналогічних препаратів ПАР, синтезованих без внесення індукторів. Ступінь прикріплення клітин тест-культур бактерій і дріжджів до абіотичних поверхонь, за обробки ПАР, синтезованих штамом ІМВ В-7241 з додаванням еукаріотичного індуктора у різному фізіологічному стані, була в 1,05-1,7 рази нижчою, порівняно із дією ПАР, одержаних без індуктора.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- Afiyatullo, S. S., Zhuravleva, O. I., & Antonov, A. S. (2018). Prenylated indole alkaloids from co-culture of marine-derived fungi *Aspergillus sulphureus* and *Isaria felina*. *Journal of Antibiotics*, 71(10), 846–853. <https://doi.org/10.1038/s41429-018-0072-9>
- Aida, H. I., & Marwa, S. M. (2020). Elicitation of biosurfactant production of *Serratia marcescens* by using biotic and abiotic factors. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 11(11), 1630–1638.
- Adnani, N., Chevrette, M. G., Adibhatla, S. N., Zhang, F., & Yu, Q. (2017). Coculture of marine invertebrate-associated bacteria and interdisciplinary technologies enable biosynthesis and discovery of a new antibiotic, keyicin. *ACS Chemical Biology*, 12(12), 3093–3102. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.7b00688>
- Allegrone, G., Ceresa, C., Rinaldi, M., & Fracchia, L. (2021). Diverse effects of natural and synthetic surfactants on the inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilm. *Pharmaceutics*, 13(8), 1172. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081172>
- Altinkaya Çavuş, M., & Sav, H. (2022). Opportunistic *Candida* infections in critical COVID-19 patients. *Polish Journal of Microbiology*, 71(3), 411–419. <https://doi.org/10.33073/pjm-2022-036>
- Ancheeva, E., Küppers, L., & Akone, S. H. (2017). Expanding the metabolic profile of the fungus *Chaetomium* sp. through co-culture with autoclaved *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Organic Chemistry*, 3256–3264.
- Anjum, K., Sadiq, I., Chen, L., Kaleem, S., Li, X. C., Zhang, Z., & Lian, X. Y. (2018). Novel antifungal janthinopolyenemycins A and B from a co-culture of marine-associated *Janthinobacterium* spp. ZZ145 and ZZ148. *Tetrahedron Letters*, 59, 3490–3494. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2018.08.022>
- Bao, J., Wang, J., Zhang, X. Y., Nong, X. H., & Qi, S. H. (2017). New furanone derivatives and alkaloids from the co-culture of marine-derived fungi *Aspergillus sclerotiorum* and *Penicillium citrinum*. *Chemistry & Biodiversity*, 14(30). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600327>

Bjerk, T. R., Severino, P., Jain, S., Marques, C., Silva, A. M., Pashirova, T., & Souto, E. B. (2021). Biosurfactants: properties and applications in drug delivery, biotechnology and ecotoxicology. *Bioengineering*, 8(8), 115. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8080115>

Chebbi, A., Elshikh, M., Haque, F., Ahmed, S., Dobbin, S., Marchant, R., Sayadi, S., Chamkha, M., & Banat, I. M. (2017), Rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* strain W10; as antibiofilm/antibiofouling products for metal protection. *Journal of Basic Microbiology*, 57(5), 364—375. <https://doi.org/10.1002/jobm.201600658>

Dashti, Y., Grkovic, T., Abdelmohsen, U. R., Hentschel, U., & Quinn, R. J. (2014). Production of induced secondary metabolites by a coculture of sponge-associated actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardiopsis* sp. RV163. *Marine Drugs*, 12(5), 3046–3059. <https://doi.org/10.3390/md12053046>

Ding, W., Lu, Y., Feng, Z., Luo, S., & Li, C. (2017). A new nonadride derivative from the co-culture broth of two mangrove fungi. *Chemistry of Natural Compounds*, 53, 691–693. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-2092-2>

Devanga Ragupathi, N. K., Veeraraghavan, B., Karunakaran, E., & Monk, P. N. (2022). Editorial: Biofilm-mediated nosocomial infections and its association with antimicrobial resistance: Detection, prevention, and management. *Frontiers in Medicine*, 9, 987011. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.987011>

D'Cunha N.M., Peterson G.M., Baby K.E., & Thomas J. (2018), Impetigo: a need for new therapies in a world of increasing antimicrobial resistance. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 43(1), 150–153. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12639>

Elshikh, M., Funston, S., Chebbi, A., Ahmed, S., Marchant, R., & Banat, I. M. (2017). Rhamnolipids from non-pathogenic *Burkholderia thailandensis* E264: Physicochemical characterization, antimicrobial and antibiofilm efficacy against oral hygiene related pathogens. *New biotechnology*, 36, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2016.12.009>

El-Baz, A. M., Mosbah, R. A., Goda, R. M., Mansour, B., Sultana, T., Dahms, T. E. S., & El-Ganiny, A. M. (2021). Back to nature: combating *Candida albicans* biofilm, phospholipase and hemolysin using plant essential oils. *Antibiotics*, 10(1), 81. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010081>

El-Hawary, S. S., Sayed, A. M., Mohammed, R., Khanfar, M. A., & Rateb, M. E. (2018). New Pim-1 kinase inhibitor from the co-culture of two sponge-associated actinomycetes. *Frontiers in Chemistry*, 6(1), 538–549. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00538>

El-Sherbiny, G. M., Moghannem, S. A., & Kalaba, M. H. (2017). Enhancement of *Streptomyces* sp. MH-133 activity against some antibiotic-resistant bacteria using biotic elicitation. *Azhar Bulletin of Science*, 9, 275–288.

Fait, M. E., Bakas, L., Garrote, G. L., Morcelle, S. R., & Saparrat, M. C. N. (2019). Cationic surfactants as antifungal agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(1), 97–112. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9467-6>

Fouad, N. A., & Khalid, J. K. L. (2016). Improvement of bacteriocin production by *Bacillus subtilis* NK16 via elicitation with prokaryotic and eukaryotic microbial cells. *Iraqi Journal of Biotechnology*, 15(2), 59–73.

Frank, M., Özkaya, F. C., & Müller, W. E. G. (2019). Cryptic secondary metabolites from the sponge-associated fungus *Aspergillus ochraceus*. *Marine Drugs*, 17(2), 99. <https://doi.org/10.3390/md17020099>

Ge, J., Fang, B., Wang, Y., Song, G., & Ping, W. (2014). *Bacillus subtilis* enhances production of paracin1.7, a bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* HD1-7, isolated from Chinese fermented cabbage. *Annals of Microbiology*, 64, 1735–1743.

Giri, S. S., Ryu, E. C., Sukumaran, V., & Park, S. C. (2019). Antioxidant, antibacterial, and anti-adhesive activities of biosurfactants isolated from *Bacillus* strains. *Microbial Pathogenesis*, 132, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.04.035>

Gomes, M.Z.V., & Nitschke, M. (2012). Evaluation of rhamnolipids surfactants as agents to reduce the adhesion of *Staphylococcus aureus* to polystyrene surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.*, 49(1), 960–965. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.025>

Gomez-Escribano, J. P., & Bibb, M. J. (2014). Heterologous expression of natural product biosynthetic gene clusters in *Streptomyces coelicolor*: From genome mining to manipulation of biosynthetic pathways. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 41(2), 425–431. <https://doi.org/10.1007/s10295-013-1348-5>

Gomez, N. C., Ramiro, J. M. P., Quecan, B. X. V., & de Melo Franco, B. D. G. (2016). Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157:H7 biofilms formation. *Front. Microbiol.*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00863>

Hifnawy S, M., Hassan, H. M., Mohammed, R., M Fouda, M., Sayed, A. M., A Hamed, A., F AbouZid, S., Rateb, M. E., Alhadrami, H. A., & Abdelmohsen, U. R. (2020). Induction of antibacterial metabolites by co-cultivation of two red-sea-sponge-associated actinomycetes *Micromonospora* sp. UR56 and *Actinokinespora* sp. EG49. *Marine drugs*, 18(5), 243. <https://doi.org/10.3390/md18050243>

Hoshino, S., Wakimoto, T., Onaka, H., & Abe, I. (2015). Chojalactones A-C, cytotoxic butanolides isolated from *Streptomyces* sp. cultivated with mycolic acid-containing bacterium. *Organic Letters*, 17(6), 1501–1504. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00385>

Hoshino, S., Wong, C. P., Ozeki, M., & Zhang, H. (2018a). Umezawamides, new bioactive polycyclic tetramate macrolactams isolated from a combined culture of *Umezawaea* sp. and mycolic acid-containing bacterium. *The Journal of Antibiotics*, 71(7), 653–657. <https://doi.org/10.1038/s41429-018-0040-4>

Hoshino, S., Ozeki, M., Wong, C. P., Zhang, H., Hayashi, F., & Awakawa, T. (2018b). Mirilactams C–E, novel polycyclic macrolactams isolated from combined culture of *Actinosynnema mirum* NBRC 14064 and mycolic acid-containing bacterium. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 66(6), 660–667. <https://doi.org/10.1248/cpb.c18-00143>

Hoshino, S., Ozeki, M., Awakawa, T., Morita, H., Onaka, H., & Abe, I. (2018c). Catenulobactins A and B, heterocyclic peptides from culturing *Catenuloplanes* sp. with a mycolic acid-containing bacterium. *Journal of Natural Products*, 81(9), 2106–2110. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.8b00261>

Hoshino, S., Onaka, H., & Abe, I. (2019). Activation of silent biosynthetic pathways and discovery of novel secondary metabolites in actinomycetes by co-culture with mycolic acid-containing bacteria. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 46(3–4), 363–374. <https://doi.org/10.1007/s10295-018-2100-y>

Huy, N. A. D., & Nguyen, T. H. K. (2014). Studies on the prodigiosin production from *Streptomyces coelicolor* in liquid media by using heated *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(5), 21–24.

Jablonska-Trypuc, A., Makuła, M., Włodarczyk-Makuła, M., Wołejko, E., Wydro, U., Serra-Majem, L., & Wiater, J. (2022). Inanimate surfaces as a source of hospital infections caused by fungi, bacteria and viruses with particular emphasis on SARS-CoV-2. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(13), 8121. <https://doi.org/10.3390/ijerph19138121>

Jeffery-Smith, A., Taori, S. K., Schelenz, S., Jeffery, K., Johnson, E. M., Borman, A., Candida auris Incident Management Team, Manuel, R., & Brown, C. S. (2017). *Candida auris*: a Review of the Literature. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(1), e00029-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00029-17>

Kamdem, R. S. T., Wang, H., & Wafo, P. (2018). Induction of new metabolites from the endophytic fungus *Bionectria* sp. through bacterial coculture. *Fitoterapia*, 124, 132–136. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2017.10.021>

Kim, J. H., Lee, N., Hwang, S., Kim, W., Lee, Y., Cho, S., Palsson, B. O., & Cho, B. K. (2021). Discovery of novel secondary metabolites encoded in *Actinomycete* genomes through coculture. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 48(3-4). <https://doi.org/10.1093/jimb/kuaa001>

Kimelman, H., & Shemesh, M. (2019). Probiotic bifunctionality of *Bacillus subtilis*—rescuing lactic acid bacteria from desiccation and antagonizing pathogenic *Staphylococcus aureus*. *Microorganisms*, 7(10), 407. <https://doi.org/10.3390/microorganisms710040>

Klančnik, A., Šimunović, K., & Sterniša, M. (2021). Anti-adhesion activity of phytochemicals to prevent *Campylobacter jejuni* biofilm formation on abiotic surfaces. *Phytochemistry Reviews*, 20(1), 55–84. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09669-6>

Knowles, S. L., Raja, H. A., & Isawi, I. H. (2020). Wheldone: Characterization of a unique scaffold from the co-culture of *Aspergillus fischeri* and *Xylaria flabelliformis*. *Organic Letters*, 22(5), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.0c00219>

Leães, F. L., Velho, R. V., Caldas, D. G., Ritter, A. C., Tsai, S. M., & Brandelli, A. (2016). Expression of essential genes for biosynthesis of antimicrobial peptides of *Bacillus*

is modulated by inactivated cells of final microorganisms. *Research in Microbiology*, 167(2), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.10.005>

Liang, L., Wang, G., Haltli, B., Marchbank, D. H., Stryhn, H., Correa, H., & Kerr, R. G. (2020). Metabolomic comparison and assessment of co-cultivation and a heat-killed inductor strategy in activation of cryptic biosynthetic pathways. *Journal of Natural Products*, 83(9), 2696–2705. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c00621>

Li, C. W., Xia, M. W., Cui, C. B., Peng, J., & Li, D. (2016). A novel oxaphenalenone, penicimutalidine: Activated production of oxaphenalenones by the diethyl sulphate mutagenesis of marine-derived fungus *Penicillium purpurogenum* G59. *RSC Advances*, 6(85), 82277–82281. <https://doi.org/10.1039/C6RA17087K>

Li, H. L., Li, X. M., & Yang, S. Q. (2020a). Induced terreins production from marine red algal-derived endophytic fungus *Aspergillus terreus* EN-539 co-cultured with symbiotic fungus *Paecilomyces lilacinus* EN-531. *Journal of Antibiotics*, 73, 108–111. <https://doi.org/10.1038/s41429-019-0242-4>

Li, H. T., Tang, L. H., & Liu, T. (2020b). Protoilludane-type sesquiterpenoids from *Armillaria* sp. by co-culture with the endophytic fungus *Epicoccum* sp. associated with *Gastrodia elata*. *Bioorganic Chemistry*, 95. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103503>

Lim, H. J., An, J. S., Bae, E. S., Cho, E., Hwang, S., Nam, S. J., Oh, K. B., Lee, S. K., & Oh, D. C. (2022). Ligiamycins A and B, decalin-amino-maleimides from the co-culture of *Streptomyces* sp. and *Achromobacter* sp. isolated from the marine wharf roach, *Ligia exotica*. *Marine Drugs*, 20(2), 83. <https://doi.org/10.3390/md20020083>

Liu, W., Wang, J., Zhang, H., Qi, X., & Du, C. (2022). Transcriptome analysis of the production enhancement mechanism of antimicrobial lipopeptides of *Streptomyces bikiniensis* HD-087 by co-culture with *Magnaporthe oryzae* Guy11. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01913-2>

Liu, H.Y., Prentice, E.L. & Webber, M.A. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *npj Antimicrob. Resist.*, 2, 27 (2024). <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00046-3>

Lu, J. R., Hu, X., Liao, M., & Shen, K. (2024). Combinatorial therapies of surfactant-like antimicrobial peptides and antibiotics for improved therapeutic efficacy. *Current*

Opinion in Colloid and Interface Science, 73, 101829.
<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2024.101829>

Luti, K. J. K., & Yonis, R. W. (2013). Elicitation of *Pseudomonas aeruginosa* with live and dead microbial cells enhances phenazine production. *Romanian Biotechnology Letters*, 18, 8769–8778.

Luti, K. J. K., Yonis, R. W., & Mahmoud, S. T. (2018). An application of solid-state fermentation and elicitation with some microbial cells for the enhancement of prodigiosin production by *Serratia marcescens*. *Journal of Al-Nahrain University*, 21(2), 98–105.

Maglangit, F., Fang, Q., Kyeremeh, K., Sternberg, J. M., Ebel, R., & Deng, H. (2020). A co-culturing approach enables discovery and biosynthesis of a bioactive indole alkaloid metabolite. *Molecules*, 25(2), 256. <https://doi.org/10.3390/molecules25020256>

Mahmoud, S. T., Luti, K. J. K., & Yonis, R. W. (2015). Enhancement of prodigiosin production by *Serratia marcescens* S23 via introducing microbial elicitor cells into culture medium. *Iraqi Journal of Science*, 56, 1938–1951.

Mendhe, S., Badge, A., Ugemuge, S., & Chandi, D. (2023). Impact of biofilms on chronic infections and medical challenges. *Cureus*, 15(11), e48204. <https://doi.org/10.7759/cureus.48204>

Meng, L. H., Li, X. M., Li, H. L., & Wang, B. G. (2020). Chermabilaenes A and B, new bioactive meroterpenoids from co-cultures of marine-derived isolates of *Penicillium bilaiae* MA-267 and *Penicillium chermesinum* EN-480. *Marine Drugs*, 18(7), 339. <https://doi.org/10.3390/md18070339>

Mohammadipanah, F., Kermani, F., & Salimi, F. (2020). Awakening the secondary metabolite pathways of *Promicromonospora kermanensis* using physicochemical and biological elicitors. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 192(4), 1224–1237. <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03361-3>

Moussa, M., Ebrahim, W., Bonus, M., & Gohlke, H. (2019). Co-culture of the fungus *Fusarium tricinctum* with *Streptomyces lividans* induces production of cryptic naphthoquinone dimers. *RSC Advances*, 9(3), 1491–1500. <https://doi.org/10.1039/c8ra09067j>

Muszanska, A. K., Nejadnik, M. R., Chen, Y., van den Heuvel, E. R., Busscher, H. J., van der Mei, H. C., & Norde, W. (2012). Bacterial adhesion forces with substratum surfaces and the susceptibility of biofilms to antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(9), 4961–4964. <https://doi.org/10.1128/AAC.00431-12>

Muzaheed, Alshehri, B. A., Rabaan, A. A., El-Masry, O. S., Acharya, S., Alzahrani, F. M., Al Mutair, A., Alhumaid, S., Al-Tawfiq, J. A., Muhammad, J., Khan, A., Dhama, K., & Al-Omari, A. (2022). A 20-year retrospective clinical analysis of *Candida* infections in tertiary centre: Single-center experience. *Journal of Infection and Public Health*, 15(1), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.11.014>

Nathan, C. (2020). Resisting antimicrobial resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 18(5), 259–260. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0348-5>

Nonaka, K., Abe, T., & Iwatsuki, M. (2011). Enhancement of metabolites productivity of *Penicillium pinophilum* FKI-5653 by co-culture with *Trichoderma harzianum* FKI-5655. *Journal of Antibiotics*, 64(12), 769–774. <https://doi.org/10.1038/ja.2011.91>

Ohadi, M., Forootanfar, H., Dehghannoudeh, G., Eslaminejad, T., Ameri, A., Shakibaie, M., & Adeli-Sardou, M. (2020). Antimicrobial, anti-biofilm, and anti-proliferative activities of lipopeptide biosurfactant produced by *Acinetobacter junii* B6. *Microbial Pathogenesis*, 138. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103806>

Ola, A. R., Thomy, D., Lai, D., Brötz-Oesterhelt, H., & Proksch, P. (2013). Inducing secondary metabolite production by the endophytic fungus *Fusarium tricinctum* through coculture with *Bacillus subtilis*. *Journal of Natural Products*, 76(11), 2094–2099. <https://doi.org/10.1021/np400589h>

Onaka, H., Mori, Y., Igarashi, Y., & Furumai, T. (2011). Mycolic acid-containing bacteria induce natural product biosynthesis in *Streptomyces* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(2), 400–406. <https://doi.org/10.1128/AEM.01337-10>

Park, H. B., Park, J. S., Lee, S. I., Shin, B., Oh, D. C., & Kwon, H. C. (2017). Gordonic acid, a polyketide glycoside derived from bacterial coculture of *Streptomyces* and *Gordonia* species. *Journal of Natural Products*, 80(9), 2542–2546. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00293>

Patel, M., Siddiqui, A. J., Hamadou, W. S., Surti, M., Awadelkareem, A. M., Ashraf, S. A., Alreshidi, M., Snoussi, M., Rizvi, S. M. D., Bardakci, F., Jamal, A., Sachidanandan, M., & Adnan, M. (2021). Inhibition of bacterial adhesion and antibiofilm activities of a glycolipid biosurfactant from *Lactobacillus rhamnosus* with its physicochemical and functional properties. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(12), 1546. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121546>

Peng, X. Y., Wu, J. T., Shao, C. L., Li, Z. Y., Chen, M., & Wang, C. Y. (2021). Co-culture: Stimulate the metabolic potential and explore the molecular diversity of natural products from microorganisms. *Marine Life Science & Technology*, 3(3), 363–374. <https://doi.org/10.1007/s42995-020-00077-5>

Pettit, R. K., Pettit, G. R., Xu, J. P., Weber, C. A., & Richert, L. A. (2010). Isolation of human cancer cell growth inhibitory, antimicrobial lateritin from a mixed fungal culture. *Planta Medica*, 76(2), 500–501. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1240617>

Pirog, T. P., & Ivanov, M. S. (2023). Microbial cocultivation: Discovery of novel secondary metabolites with different biological activities. *Biotechnology Acta*, 16(1), 21–39. <https://doi.org/10.15407/biotech16.01.021>

Pirog, T.P., Lutsay, D.A., Kliuchka, L.V., & Beregova, K.A. (2019). Antimicrobial activity of surfactants of microbial origin. *Biotechnologia Acta*, 12(1), 39—57. <https://doi.org/10.15407/biotech12.01.039>

Pirog, T.P., Lutsay, D.A., Shevchuk, T.A., & Iutynska, G.O. (2021). Synthesis and biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants depending on monovalent cations content in cultivation medium. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 83(2), 20–31. <https://doi.org/10.15407/microbio1j83.02.020>

Pirog, T. P., Skrotska, O. I., & Shevchuk, T. A. (2020a). Influence of biological inductors on antimicrobial, antiadhesive activity, and biofilm destruction by *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 82(3), 24–33. <https://doi.org/10.15407/microbio1j82.03.035>

Pirog, T., Kluchka, L., Skrotska, O., & Stabnikov, V. (2020b). The effect of co-cultivation of *Rhodococcus erythropolis* with other bacterial strains on biological activity of

synthesized surface-active substances. *Enzyme and Microbial Technology*, 142, 109677. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2020.109677>

Pirog, T., Ivanov, M., & Yarova, H. (2021). Antimicrobial activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of biological inductors. *Scientific Works of NUFT*, 27(4), 43–52. <https://doi.org/10.24263/2225-2924-2021-27-4-6>

Pirog, T., Kluchka, I., & Kluchka, L. (2022). Influence of inactivated cells of competitive microorganisms on the biological activity of *Rhodococcus erythropolis* IMV Ac-5017 surfactants. *Scientific Works of NUFT*, 28(2), 24–35.

Pirog T.P., Ivanov M.S., Shevchuk T.A., & Blagodyr D.O. (2024). The effect of pro- and eukaryotic inductors on the synthesis and antimicrobial activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants. *Mikrobiolohichni Zhurnal*, 86(4): 41-52. <https://doi.org/10.15407/microbiolj86.04.041>

Pishchany, G., Mevers, E., & Ndousse-Fetter, S. (2018). Amycomycin is a potent and specific antibiotic discovered with a targeted interaction screen. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 5(1), 1–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1807613115>

Pyroh, T. P., Shevchuk, T. A., Berehova, Kh. A., & Kudria, N. V. (2015). Peculiarities of glucose and glycerol metabolism in *Nocardia vaccinii* IMB B-7405. *The Ukrainian Biochemical Journal*, 87 (2), 66-75. <http://jnas.nbu.gov.ua/article/UJRN-0000423840> [In Ukrainian].

Ramchandran, R., Ramesh, S., Thakur, R., Chakrabarti, A., & Roy, U. (2020). Improved production of two anti-*Candida* lipopeptide homologues co-produced by the wildtype *Bacillus subtilis* RLID 12.1 under optimized conditions. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(5), 438–450. <https://doi.org/10.2174/1389201020666191205115008>

Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S., & Dobson, A. D. W. (2018). Extending the “One Strain Many Compounds” (OSMAC) principle to marine microorganisms. *Marine Drugs*, 16(7), 244. <https://doi.org/10.3390/md16070244>

Rufino, R.D., Luna, J.M., Sarubbo, L.A., Rodrigues, L.R., Teixeira, J.A., & Campos-Takaki, G.M. (2011). Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant rufisan produced by *Candida lipolytica* UCP 0988. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 84(1), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.10.045>

Sh, M. M., Abd Al-Rhman, Rand M., & Mater, Haifa N. (2019). Enhancement of pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* using biotic and abiotic factors. *Research Journal of Biotechnology*, 14(1), 234–240.

Sharma, R., Jamwal, V., Singh, V. P., Wazir, P., Awasthi, P., Singh, D., Chaubey, A. (2017). Revelation and cloning of valinomycin synthetase genes in *Streptomyces lavendulae* ACRDA1 and their expression analysis under different fermentation and elicitation conditions. *Journal of Biotechnology*, 253, 40–47.

Shen, W., Wang, D., Wei, L., & Zhang, Y. (2020). Fungal elicitor-induced transcriptional changes of genes related to branched-chain amino acid metabolism in *Streptomyces natalensis* HW-2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(10), 4471–4482. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10564-5>

Shi, Y., Pan, C., & Wang, K. (2017a). Synthetic multispecies microbial communities reveal shifts in secondary metabolism and facilitate cryptic natural product discovery. *Environmental Microbiology*, 19(9), 3606–3618. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13858>

Shi, S., Tao, Y., & Liu, W. (2017b). Effects of fungi fermentation broth on natamycin production of *Streptomyces*. *Progress in Applied Microbiology*, 1, 15–22.

Shin, D., Byun, W. S., & Moon, K. (2018). Coculture of marine *Streptomyces* sp. with *Bacillus* sp. produces a new piperazic acid-bearing cyclic peptide. *Frontiers in Chemistry*, 6, 498. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00498>

Schneider, Y., Jenssen, M., Isaksson, J., Hansen, K. Ø., Andersen, J. H., & Hansen, E. H. (2020). Bioactivity of serratiochelin A, a siderophore isolated from a co-culture of *Serratia* sp. and *Shewanella* sp. *Microorganisms*, 8(7), 1042. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071042>

Selegato, D. M., & Castro-Gamboa, I. (2023). Enhancing chemical and biological diversity by co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1117559. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1117559>

Sofroniou, C., Scacchi, A., Le, H., Espinosa Rodriguez, E., D'Agosto, F., Lansalot, M., Dunlop, P. S. M., Ternan, N. G., & Martín-Fabiani, I. (2024). Tunable assembly of photocatalytic colloidal coatings for antibacterial applications. *ACS Appl. Polym. Mater.*, 6(17), 10298–10310. <https://doi.org/10.1021/acsapm.4c01436>

Song, Z., Ma, Z., Bechthold, A., & Yu, X. (2020). Effects of addition of elicitors on rimocidin biosynthesis in *Streptomyces rimosus* M527. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(10), 4445–4455. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10565-4>

Stierle, A. A., Stierle, D. B., & Decato, D. (2017). The berkeleylactones, antibiotic macrolides from fungal co-culture. *Journal of Natural Products*, 80(4), 1150–1160. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00133>

Stincone, P., Veras, F. F., Pereira, J. Q., Mayer, F. Q., Varela, A. P. M., & Brandelli, A. (2020). Diversity of cyclic antimicrobial lipopeptides from *Bacillus* P34 revealed by functional annotation and comparative genome analysis. *Microbiological Research*, 238, 126515. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126515>

Straub, H., Bigger, C. M., Valentin, J., Abt, D., Qin, X. H., Eberl, L., Maniura-Weber, K., & Ren, Q. (2019). Bacterial adhesion on soft materials: passive physicochemical interactions or active bacterial mechanosensing? *Advanced Healthcare Materials*, 8(8), e1801323. <https://doi.org/10.1002/adhm.201801323>

Stroe, M. C., Netzker, T., & Scherlach, K. (2020). Targeted induction of a silent fungal gene cluster encoding the bacteria-specific germination inhibitor fumigermin. *eLife*, 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.52541>

Sugiyama, R., Nishimura, S., Ozaki, T., Asamizu, S., & Onaka, H. (2016). Discovery and total synthesis of streptoaminals: Antimicrobial [5,5]-spirohemiaminals from the combined culture of *Streptomyces nigrescens* and *Tsukamurella pulmonis*. *Angewandte Chemie International Edition*, 55(35), 10278–10282. <https://doi.org/10.1002/anie.201604126>

Thu, T. T. M., Vinh, D. T. T., Dung, N. A., & Tu, N. H. K. (2021). Effect of lactic acid produced by lactic acid bacteria on prodigiosin production from *Streptomyces coelicolor*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(4), 1953–1956. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2021.00345>

Thissera, B., Alhadrami, H. A., & Hassan, M. H. A. (2020). Induction of cryptic antifungal pulicatin derivatives from *Pantoea agglomerans* by microbial co-culture. *Biomolecules*, 10(2), 268. <https://doi.org/10.3390/biom10020268>

Tzirita, M., Kremmyda, M., Sarris, D., Koutinas, A. A., & Papanikolaou, S. (2019). Effect of salt addition upon the production of metabolic compounds by *Yarrowia lipolytica* cultivated on biodiesel-derived glycerol diluted with olive-mill wastewaters. *Energies*, 12(19), 3649. <https://doi.org/10.3390/en12193649>

Wakefield, J., Hassan, H. M., Jaspars, M., Ebel, R., & Rateb, M. E. (2017). Dual induction of new microbial secondary metabolites by fungal-bacterial co-cultivation. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1284. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01284>

Wang, D., Yuan, J., Gu, S., & Shi, Q. (2013). Influence of fungal elicitors on biosynthesis of natamycin by *Streptomyces natalensis* HW-2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 5527–5534. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-4786-0>

Wang, D., Wei, L., Zhang, Y., Zhang, M., & Gu, S. (2017). Physicochemical and microbial responses of *Streptomyces natalensis* HW-2 to fungal elicitor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(17), 6705–6712. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8440-0>

Wang, Z. R., Li, G., Ji, L. X., Wang, H. H., Gao, H., & Peng, P. (2019). Induced production of steroids by cocultivation of two endophytes from *Mahonia fortunei*. *Steroids*, 145(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2019.02.005>

Wang, M., Yang, C., François, J. M., Wan, X., Deng, Q., Feng, D., & Gong, Y. (2021). A two-step strategy for high-value-added utilization of rapeseed meal by concurrent improvement of phenolic extraction and protein conversion for microbial iturin A production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 735714. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.735714>

Westhoff, S., Kloosterman, A. M., van Hoesel, S. F. A., van Wezel, G. P., & Rozen, D. E. (2021). Competition sensing changes antibiotic production in *Streptomyces*. *mBio*, 12(1), e02729-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.02729-20>

Whitt, J., Shipley, S. M., Newman, D. J., & Zuck, K. M. (2014). Tetramic acid analogues produced by coculture of *Saccharopolyspora erythraea* with *Fusarium pallidoroseum*. *Journal of Natural Products*, 77(1), 173–177. <https://doi.org/10.1021/np400761g>

Wißmann, J. E., Kirchhoff, L., Brüggemann, Y., Todt, D., Steinmann, J., & Steinmann, E. (2021). Persistence of pathogens on inanimate surfaces: a narrative review. *Microorganisms*, 9(2), 343. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9020343>

Woolhouse, M., Waugh, C., Perry, M. R., & Nair, H. (2016). Global disease burden due to antibiotic resistance - state of the evidence. *Journal of Global Health*, 6(1), 010306. <https://doi.org/10.7189/jogh.06.010306>

Wu, Q., Ni, M., Dou, K., Tang, J., Ren, J., Yu, C., & Chen, J. (2018). Co-culture of *Bacillus amyloliquefaciens* ACCC11060 and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 enhanced pathogen-inhibition and amino acid yield. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 155. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1004-x>

Yang, S. Q., Li, X. M., Li, X., Li, H. L., Meng, L. H., & Wang, B. G. (2018). New citrinin analogues produced by co-culture of the marine algal-derived endophytic fungal strains *Aspergillus sydowii* EN-534 and *Penicillium citrinum* EN-535. *Phytochemistry Letters*, 25, 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2018.04.023>

Yu, M., Li, Y., & Banakar, S. P. (2019a). New metabolites from the co-culture of marine-derived actinomycete *Streptomyces rochei* MB037 and fungus *Rhinochadiella similis* 35. *Frontiers in Microbiology*, 10, 915. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00915>

Yu, G., Sun, Z., & Peng, J. (2019b). Secondary metabolites produced by combined culture of *Penicillium crustosum* and a *Xylaria* sp. *Journal of Natural Products*, 82(7), 2013–2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b00345>

Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>

Zhang, B., Tian, W., & Wang, S. (2017a). Activation of natural products biosynthetic pathways via a protein modification level regulation. *ACS Chemical Biology*, 12(7), 1732–1736. <https://doi.org/10.1021/acschembio.7b00225>

Zhang, Z., He, X., & Zhang, G. (2017b). Inducing secondary metabolite production by combined culture of *Talaromyces aculeatus* and *Penicillium variable*. *Journal of Natural Products*, 80(12), 3167–3171. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00417>

Zhang, L., Niaz, S. I., & Wang, Z. (2018). α -Glucosidase inhibitory and cytotoxic botryorhodines from mangrove endophytic fungus *Trichoderma* sp. 307. *Natural Product Research*, 32(24), 2887–2892. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1385023>

Zheng, S., Bawazir, M., Dhall, A., Kim, H. E., He, L., Heo, J., & Hwang, G. (2021). Implication of surface properties, bacterial motility, and hydrodynamic conditions on bacterial surface sensing and their initial adhesion. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 643722. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.643722>

Zhuravleva, O. I., Kirichuk, N. N., Denisenko, V. A., Dmitrenok, P. S., Yurchenko, E. A., & Min'ko, E. M. (2016). New diorcinol J produced by co-cultivation of marine fungi *Aspergillus sulphureus* and *Isaria felina*. *Chemistry of Natural Compounds*, 52, 227–230. <https://doi.org/10.1007/s10600-016-1601-z>

Zhu, F., Chen, G., Chen, X., Huang, M., & Wan, X. (2011). Aspergicin, a new antibacterial alkaloid produced by mixed fermentation of two marine-derived mangrove epiphytic fungi. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(4), 767–769. <https://doi.org/10.1007/s10600-011-0053-8>

Пирог, Т.П., Покора, Х.А., Софилканич, А.П., Шевчук, Т.А., & Иутинская, Г.А. (2014). Синтез поверхнево-активних речовин *Rhodococcus erythropolis* IMB Ас-5017, *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 і *Nocardia vaccinii* IMB В-7405 на промислових відходах. *Мікробіологічний журнал*, 76 (2), 17-23. <http://jnas.nbuv.gov.ua/article/UJRN-0000114521>

Пирог, Т.П., Конон, А.Д., Береговая, К.А., & Шулякова, М.А. (2014). Антиадгезивные свойства поверхностно-активных веществ *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, *Rhodococcus erythropolis* IMB Ас-5017 и *Nocardia vaccinii* IMB В-7405. *Микробиология*, 83 (6), 631–639.

Пирог, Т.П., Савенко, И.В., & Шевчук, Т.А. (2016). Влияние условий культивирования *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 на антиадгезивные свойства поверхностно-активных веществ. *Мікробіологічний журнал*, 78 (1), 2-12.

Руденко В.М. Математична статистика. Київ: Центр учбової літератури, 2012. 304 с.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А. Акт впровадження результатів науково дослідної роботи у навчальний процес

Міністерство освіти і науки України
Національний університет харчових технологій



ЗАТВЕРДЖУЮ:

Проректор з наукової роботи

Сергій ТОКАРЧУК

12 2024 р.

впровадження результатів науково-дослідних, дослідно-конструкторських, дисертаційних робіт у навчальний процес вищих навчальних закладів

Замовник Національний університет харчових технологій в особі проректора з наукової роботи **Токарчука Сергія Володимировича**, який діє на підставі наказу №87 від 20.10.22р

(П.І.Б. керівника)

Дійсним актом підтверджується, що результати наукової роботи на тему: «Вплив біологічних індукторів на антимікробну та антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241», що виконувалась згідно плану науково-дослідної роботи кафедри біотехнології і мікробіології «Біотехнологічний потенціал мікроорганізмів природних та техногенних екосистем (2019-2023 рр., № державної реєстрації 0119U001485). **виконаної** на кафедрі біотехнології і мікробіології

(найменування кафедри)

виконуваної з 2021 **по** 2023

(термін виконання)

впроваджені у навчальний процес кафедри біотехнології і мікробіології

1. Вид впроваджених результатів: регуляція біологічної активності (антимікробна, антиадгезивна, здатність до руйнування біоплівки) мікробних поверхнево-активних речовин внесенням у середовище культивування продуцента про- та еукаріотичних біологічних індукторів у різному фізіологічному стані.

2. Форма впровадження: модулі навчальних дисциплін «Інтенсифікація технологій мікробного синтезу» та «Біотехнологічні студії» для підготовки докторів філософії за спеціальністю 162 «Біотехнології і біоінженерія».

3. Новизна результатів науково-дослідних робіт: На теперішній час комбіноване (спільне) культивування продуцентів антимікробних сполук з іншими мікроорганізмами, або внесення у середовище культивування біологічних індукторів у різному фізіологічному стані (живі, інактивовані клітини, або відповідний супернатант) є простим, дешевим та достатньо ефективним способом підвищення синтезу практично важливих мікробних метаболітів і регуляції їхньої біологічної активності. У більшості робіт дослідники використовують як індуктори штами бактерій різних фізіологічних груп, проте останніми роками з'являється все більше публікацій про

еукаріотичні індуктори, у відповідь на наявність яких спостерігається підвищення синтезу антимікробних сполук, у тому числі й мікробних поверхнево-активних речовин, які є метаболітами з широким спектром біологічних властивостей. Встановлено можливість регуляції антимікробної, антиадгезивної активності та здатності до руйнування біоплівки поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності в середовищі культивування про- та еукаріотичних індукторів у різному фізіологічному стані. Встановлено можливість кратного підвищення антимікробної та антиадгезивної активності досліджуваних поверхнево-активних речовин за одночасного використання біологічних індукторів та заміни очищеного гліцерину як субстрату на токсичні відходи виробництва біодизелю.

4. Перелік курсів і дисциплін, у рамках яких викладені результати НДР:

Результати наукових досліджень увійшли до курсів лекцій з дисциплін «Загальна мікробіологія» для здобувачів освітнього ступеня «бакалавр», «Природознавча мікробіологія» для здобувачів освітнього ступеня «магістр» спеціальності 162 «Біотехнології і біоінженерія», а також використані у курсовому та дипломному проектуванні.

5. Соціальний і науково-технічний ефект: Синтетичні поверхнево-активні речовини, використовувані у різних галузях промисловості (фармацевтична, харчова, сільське господарство, медицина), стають дедалі непопулярнішими через негативний вплив на біологічні системи і довкілля. Проблеми забруднення навколишнього середовища у багатьох країнах світу призвели до посилення правового та суспільного тиску і вимог до використання біорозкладних поверхнево-активних речовин, що синтезуються з відновлюваних субстратів. Використання як субстрату відходів виробництва біодизелю замість очищеного гліцерину при отриманні мікробних ПАР *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 дозволить утилізувати токсичні для навколишнього середовища відходи та знизити собівартість цінних вторинних метаболітів з широким спектром дії (антиадгезивна, антимікробна активність та здатність до руйнування біоплівки).

Керівник НДР



(підпис)

«__» _____ 2024__ р.

Тетяна ПИРОГ

(ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

Виконавець



(підпис)

«__» _____ 2024__ р.

Микита ІВАНОВ

(ім'я, ПРІЗВИЩЕ)

ДОДАТОК В. Список наукових праць за темою дисертації

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Пирог, Т.П., Іванов, М.С., & Ярова, Г.А. (2021). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*, 27(4), 43-52. doi: 10.24263/2225-2924-2021-27-4-6

<https://dspace.nuft.edu.ua/items/eb7f7695-13d9-43f1-878b-fca97c8462d9>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антимікробної активності мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 975 від 11.07.2019); міжнародна індексація: *Index Copernicus, Google Scholar, EBSCOhost*.

2. Пирог, Т.П., & Іванов, М.С. (2022). Вплив біологічних індукторів на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*, 28(4), 36-46. doi: 10.24263/2225-2924-2022-28-4-5

<https://dspace.nuft.edu.ua/items/c5652180-6a74-4ac0-af36-7fd806aff5cf>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної активності мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 975 від 11.07.2019); міжнародна індексація: *Index Copernicus, Google Scholar, EBSCOhost*.

3. Pirog, T., & Ivanov, M. (2022). Destruction of biofilms under the influence of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants, synthesized in the presence of

competitive microorganisms. *Ukrainian Food Journal*, 11(2), 291-301. doi: 10.24263/2304-974X-2022-11-2-9

<https://ufj.nuft.edu.ua/indexpre.html?doi=10.24263/2304-974X-2022-11-2-9>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів на руйнування мікробних біоплівки, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«*Ukrainian Food Journal*» включено у перелік наукових фахових видань за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія», категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 358 від 15.03.2019); міжнародна індексація *Emerging Sources Citation Index* (складова *Web of Science*), *Google Scholar*, *Index Copernicus*, *Directory of Research Journal Indexing (DRJI)*, *Universal Impact Factor*, *EBSCO*, *Ulrichs Web*, *ERIH PLUS*, *Directory of Open Access Scholarly Resources*, *Directory of Open Access Journal*, *CAS Source Index*, *Scopus*, квартиль Q4.

4. Pirog, T.P., & Ivanov, M.S. (2023). Microbial co-cultivation: discovery of novel secondary metabolites with different biological activities. *Biotechnologia Acta*, 16(1), 21-39. doi: 10.15407/biotech16.01.021

<https://biotechnology.kiev.ua/index.php/en/journal-archive-en/2023-en/2023-no-1-en/microbial-co-cultivation-discovery-of-novel-secondary-metabolites-with-different-biological-activities-t-p-pirog-m-s-ivanov>

Особистий внесок здобувача: узагальнено сучасні літературні дані щодо спільного культивування продуцентів антимікробних речовин з конкурентними мікроорганізмами, в результаті якого відбувається синтез нових метаболітів з антимікробною та цитотоксичною активністю, не характерною для монокультур, структуровано огляд відповідно до тематики досліджень, написано та оформлено статтю до друку.

«*Biotechnologia acta*» включено у перелік наукових фахових за спеціальністю 162-Біотехнології та біоінженерія, категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 612 від 07.05.2019), міжнародна індексація: *CrossRef*, *Google Scholar*, *Index Copernicus* та ін.

5. Pirog, T.P., & Ivanov, M.S. (2023). Influence of biological inductors on the synthesis and biological activity of microbial metabolites. *Biotechnologia Acta*, 16(6): 17-33. doi: 10.15407/biotech16.06.017

<https://biotechnology.kiev.ua/index.php/en/journal-archive-en/2023-en/2023-no6-en/influence-of-biological-inductors-on-the-synthesis-and-biological-activity-of-microbial-metabolites-t-p-pirog-m-s-ivanov>

Особистий внесок здобувача: узагальнення існуючих в літературі наукових досліджень, пов'язаних з впливом фізіологічно різних типів біологічних індукторів на синтез та біологічну активність вторинних метаболітів мікроорганізмів, обґрунтовано актуальність теми та її значення для розвитку науки, написано та оформлено статтю до друку.

«*Biotechnologia acta*» включено у перелік наукових фахових за спеціальністю 162-Біотехнології та біоінженерія, категорія Б (Наказ Міністерства освіти і науки України № 612 від 07.05.2019), міжнародна індексація: CrossRef, Google Scholar, Index Copernicus та ін.

Статті у інших наукових виданнях

6. Pirog, T.P., Ivanov, M.S., & Shevchuk T.A. (2023). Biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of competitive bacteria *Bacillus subtilis* BT-2. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 85(4), 21-33. doi: 10.15407/microbiolj85.04.021

<https://ojs.microbiolj.org.ua/index.php/mj/article/view/13>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної, антимікробної активності та здатності до руйнування біоплівки мікробних поверхнево-активних речовин за наявності біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«*Mikrobiolohichnyi Zhurnal*» включено у перелік наукових фахових видань України за спеціальністю 091-Біологія, категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1471 від 26.11.2020); міжнародна індексація: Scopus, квартиль Q4.

7. Pirog T.P., Ivanov M.S., Shevchuk T.A., & Blagodyr D.O. (2024). The effect of pro- and eukaryotic inductors on the synthesis and antimicrobial activity of *Acinetobacter*

calcoaceticus IMV B-7241 surfactants. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 86(4): 41-52. doi: 10.15407/microbiolj86.04.041

<https://ojs.microbiolj.org.ua/index.php/mj/article/view/206>

Особистий внесок здобувача: приймав участь у розробці плану дослідження, проведено дослідження антиадгезивної, антимікробної активності та здатності до руйнування біоплівки мікробних поверхнево-активних речовин за наявності прокаріотичних та еукаріотичних біологічних індукторів, проведено обробку отриманих даних та інтерпретацію результатів, написано та оформлено статтю до друку.

«*Mikrobiolohichnyi Zhurnal*» включено у перелік наукових фахових видань України за спеціальністю 091-Біологія, категорія А (Наказ Міністерства освіти і науки України № 1471 від 26.11.2020); міжнародна індексація: Scopus, кuartиль Q4.

Тези доповідей у матеріалах конференцій

1. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2021). Представники роду *Acinetobacter* як продуценти біоемульгаторів. Матеріали 87 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті», Київ, Україна, Квітень 15-16, с 388.

2. Іванов, М.С., & Ярова, Г.А. (2021). Вплив бактерій роду *Bacillus* на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241. Збірник матеріалів IX науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво», Київ, Україна, Жовтень 28-29, с 77-78.

3. Іванов, М.С., Пирог, Т.П., & Ярова, Г.А. (2021). Вплив біологічних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241. Програма та тези матеріалів X Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції», Київ, Україна, Листопад 9-10, с 22-24.

4. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Антифунгальна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих

учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті», Київ, Україна, Квітень-травень, с 312.

5. Іванов, М., Благодир, Д., & Пирог, Т. (2022). Вплив конкурентних грамнегативних бактерій на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали 88 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень-травень, с 304.

6. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив біологічних індукторів на здатність синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 поверхнево-активних речовин руйнувати біоплівки. *Матеріали II міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Травень 20, с 114-115.

7. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Руйнування дріжджових біоплівок під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності біологічних індукторів. *Збірник матеріалів XVI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття»*, Київ, Україна, Червень 3, с 45-46.

8. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Деструкція бактеріальних біоплівок під впливом поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* C-8. *Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології»*, Харків, Україна, Жовтень 13, с 113-115.

9. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив дріжджів роду *Saccharomyces* на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології»*, Харків, Україна, Жовтень 13, с 173-175.

10. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Грамнегативні конкурентні бактерії як фактор регуляції біологічної активності поверхнево-активних

речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 8-9.

11. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2022). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 23-25.

12. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив еукаріотичних індукторів на антимікробну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. *Збірник матеріалів X науково-практичної конференції з міжнародною участю школи молодих науковців АТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Жовтень 27-28, с 60-61.

13. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2022). Вплив на біоплівки поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241, синтезованих за наявності конкурентних грамнегативних бактерій. *Програма та тези матеріалів XI Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції»*, Київ, Україна, Листопад 8, с 22-23.

14. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 з високою антимікробною активністю. *Програма та тези матеріалів XI Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції»*, Київ, Україна, Листопад 8, с 39-40.

15. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив грамнегативних бактерій на синтез поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 з високою біологічною активністю. *Матеріали III міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 24, с 111-112.

16. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1 на здатність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 руйнувати біоплівки. *Матеріали III міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 24, с 302-303.

17. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив бактерій роду *Bacillus* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *«Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині»: матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції*, Харків, Україна, Березень 24, с 81-83.

18. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Деструкція дріжджових біоплівок за дії поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих за наявності грамнегативних бактерій. *Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 3-7, с 394.

19. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив дріжджів роду *Saccharomyces* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241. *Матеріали 89 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті»*, Київ, Україна, Квітень 3-7, с 418.

20. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Руйнування дріжджових біоплівок під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 за наявності бактеріальних індукторів. *«Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування»: матеріали міжнародної наукової конференції*, Харків, Україна, Квітень 27-28, с 20-21.

21. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241 за наявності дріжджів роду *Saccharomyces*. *Сучасні*

досягнення фармацевтичної технології: матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія Володимировича, Харків, Україна, Травень 10-11, с 74-75.

22. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив конкурентних грампозитивних бактерій на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 32 – 35.

23. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Дріжджі роду *Saccharomyces* як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 з високою антибактеріальною активністю. «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 43 - 45.

24. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив фізіологічного стану індуктора на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. «Хімія, біотехнологія, екологія та освіта»: Збірник матеріалів VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, Полтава, Україна, Травень 17-18, с 45 - 48.

25. Іванов, М.С., Пирог, Т.П., & Шевчук, Т.А. (2023). Вплив *Bacillus subtilis* БТ-2 на біологічну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, Київ, Україна, Травень 19, с 99-100.

26. Іванов, М.С., Парфенюк, М.А., & Пирог, Т.П. (2023). Деструкція біоплівки під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241 за наявності *Saccharomyces cerevisiae* БТМ-1. «Біотехнологія XXI століття»: матеріали XVII Міжнародної науково-практичної конференції, Київ, Україна, Травень 19, с 157-158.

27. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив грамнегативних конкурентних бактерій на властивості поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB В-7241. Технологія-2023: матеріали міжн. наук.-практ. конф, Київ, Україна, Травень 26, с 16.

28. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Вплив бактерій роду *Enterobacter* на антиадгезивну активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Збірник матеріалів XII Міжнародної науково-технічної конференції "Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції"*, Київ, Україна, Листопад 7, с 39-40.

29. Ivanov, M.S., Blagodyr, D.O., & Pirog, T.P. (2023). Competitive gram-positive and gram-negative bacteria as a factor in the regulation of the biological activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants. *Abstract book of the International Scientific and Practical Conference "Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period"*, Kyiv, Ukraine, November 15-16, p 29-31.

30. Ivanov, M.S., Parfeniuk, M.A., & Pirog, T.P. (2023). Antifungal activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of biological inductors. *Abstract book of the International Scientific and Practical Conference "Modern aspects of microbiology, virology and biotechnology in wartime and post-war period"*, Kyiv, Ukraine, November 15-16, p 85-86.

31. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2023). Використання конкурентних бактерій з метою регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Збірник XI науково-практичної конференції Школи молодих науковців АТ «Фармак» на тему: «Наука, інновації та сучасне фармацевтичне виробництво»*, Київ, Україна, Листопад 29-30, с 6-7.

32. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* C-8. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної, екологічної біохімії та молекулярної біології: збірник публікацій I Міжнародної науково-практичної online конференції, присвяченої 85-річчю з дня заснування кафедри біохімії*, Харків, Україна, Березень 7, с 441- 444.

33. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Регуляція антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за умов спільного культивування із біологічним індуктором. *Матеріали*

IV міжнародної науково-практичної Інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології», Харків, Україна, Березень 22, с 165-167.

34. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Конкурентні грамнегативні бактерії як фактор регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали 90 Ювілейної Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті»*, Київ, Україна, Квітень 11-12, с 377.

35. Іванов, М., & Пирог, Т. (2024). Руйнування дріжджових біоплівки під впливом поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності *Enterobacter cloacae* C-8. *Матеріали 90 Ювілейної Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ХХІ столітті»*, Київ, Україна, Квітень 11-12, с 395.

36. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Використання бактерій роду *Enterobacter* для регуляції антиадгезивної активності поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241. *Матеріали Міжнар. наук. конф. «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування»*, Харків, Україна, Квітень 25-26, с 49-50.

37. Іванов, М.С., Благодир, Д.О., & Пирог, Т.П. (2024). Антиадгезивна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих під час спільного культивування з конкурентними грамнегативними бактеріями. *Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Стан і перспективи розвитку хімічної, харчової та парфумерно-косметичної галузей промисловості»*, Хмельницький, Україна, Травень 31, с 71-73.

38. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2024). The ability of surfactants synthesised by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 under the action of eukaryotic inductor to destroy yeast biofilms. *Abstract book of the V Scientific Conference of Young Researchers “Youth and Modern Problems of Microbiology and Virology”*, Kyiv, Ukraine, November 19-20, p 18.

39. Іванов, М.С., & Пирог, Т.П. (2024). Дріжджі роду *Saccharomyces* як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 з високою здатністю до руйнування бактеріальних біоплівкок. *Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції : Програма та тези матеріалів XIII Міжнародної науково-технічної конференції*, Київ, Україна, Листопад 21, с 70-71.

40. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2025). Antiadhesive activity of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesised with competitive gram-negative bacteria. *Матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині»*, Харків, Україна, Березень 21, с 17-18.

41. Ivanov, M.S., & Pirog, T.P. (2025). *Saccharomyces* yeast as an inductor of synthesis of surfactants of *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 with high antiadhesive activity. *Матеріали V міжнародної науково-практичної-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»*, Харків, Україна, Березень 28, с 35-37.