ՀՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ

«ՀԱՅԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ» ԳԱԿ ՊՈԱԿ

ԻՍՐԱՅԵԼՅԱՆ ԱՐԵՎԻԿ ԼԵՎՈՆԻ

ԱՐՑԱԽԻ ՏԱՐԲԵՐ ԸՆՏԱՆԻ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԿԱԹԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ՄԵՏԱԲԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.07- «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ

կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի

գիտական աստիճանի համար

Գիտական ղեկավար՝

կ.գ.թ. Ֆլորա Նուբարի Տխրունի

ԵՐԵՎԱՆ – 2018

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը

Դեռևս անցած դարաշրջանում Իլյա Մեչնիկովը առաջինն է իր աշխատանքներում նշել կաթնաթթվային բակտերիաների (ԿԹԲ) և *Streptococcus thermophillus*–ի հնարավոր բուժիչ հատկությունների մասին: Նա իր՝ «Կյանքի երկարացման գաղտնիքը» գրքում գրել է, որ կենդանի բակտերիաների կիրառումը կաթնամթերքի տեսքով շատ օգտակար է աղեստամոքսային համակարգի համար:

Պրոբիոտիկներ անվանումը 1974թ առաջարկվել է Ռիչարդ Պարկերի կողմից և բառացիորեն նշանակում է կյանքի համար: Պրոբիոտիկներ անվանում են կենսաբանական պատրաստուկները, որոնք բաղկացած են կենդանի ոչ ախտածին մանրէներից և ուղղված են աղիքային ախտածին կամ նեխում առաջացնող մանրէների դեմ [93, 10, 61,7]:

Վերջին տասնամյակում մեծ ուշադրություն է դարձվում տարբեր երկրներում ԿԹԲ-ների հատկությունների (հակամանրէային, հակաօքսիդանտային, ադհեզիվ և այլ պրոբիոտիկ հատկությունները) ուսումնասիրմանը նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի պատրաստման նպատակով: Զուգահեռ հետազոտվում է պրոբիոտիկ մանրէների նյութափոխանակության արգասիքները՝ մետաբիոտիկները, որոնք կարող են օգտագործվել որպես հավելում անասնաբուժության և սննդի կենսապահածոյացման մեջ[28]:

2011-2017 թվականներից առ այսօր Արցախի Հանրապետության տարբեր շրջանների տնային տնտեսություններից հավաքագրված տարբեր կաթնամթերքներից մեկուսացրել ենք ԿԹԲ-ների մոտավորապես 150 նմուշներ: Ուսումնասիրել ենք կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունները [37], ինչպես նաև նրանց կենսաբանական արգասիքների ազդեցությունը պայմանական ախտածին մանրէների վրա [97]: Մեր կողմից կատարված աշխատանքները ցույց տվեցին, որ կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները, որոնք ունեն պրոբիոտիկ հատկություններ ներկայացված են մեծ մասամբ Enterococcus ցեղի ներկայացուցիչներով [1]:

ենթադրվում է, որ կաթի բաղադրությունը և քիմիական կազմը կարող են ազդել մանրէների հատկությունների վրա:

Գրականության մեջ սահմանափակ են տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների հատկությունների ուսումնասիրությունները: Վերջին տարիների հետազոտությունները ցույց են տվել, որ Արցախի ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանությունը էապես տարբերվում է Հայաստանի և Վրաստանի մանրէների կենսաբազմազանությունից [48]:

Վաղուց ի վեր հայտնի է, որ **այծի** կաթը վերականգնում է մարդու օրգանիզմը մի շարք ծանր հիվանդություններից հետո, հատկապես շնչառական ուղիների: Այսօր իտալացի մի շարք գիտնականներ համարում են, որ **ավանակի** կաթը կարող է օգնել տարբեր ալերգիաներով տառապող (հատկապես լակտոզայի նկատմամբ) երեխաներին, այն ժամանակ երբ այծի և կովի կաթը կտրականապես արգելվում է օգտագործել, քանի որ պարունակում է նույն ալերգենները [56, 50]: **Ոչխարի** կաթը պարունակում է երկու անգամ ավելի շատ հանքային տարրեր, կալցիում, ցինկ, ֆտոր և B խմբի վիտամիններ, քան կովի ու այծի կաթը: **Ավանակի** կաթը անփոխարինելի է թոքաբորբով, բրոնխիտով և շնչառական ուղիների հիվանդությունների բուժման համար:

Ավանակի կաթը շատ մոտ է մարդու կաթին, տարբերությունը կայանում է նրանում, որ այն ավելի շատ է հագեցած ճարպաթթուներով, ինչպիսիք են օմեգա-3 և 6, որոնք խթանում են արյան մեջ խոլեստերինի քանակի իջեցմանը [60, 77, 88]: Բացի դրանից ավանակի կաթը պարունակում է լիզոցիմ ֆերմենտ և կալցիում այնքան, որն առավելագույն կերպով օրգանիզմը պաշտպանում է տարբեր աղիքային վարակներից: Հին Հունաստանում ավանակի կաթը օգտագործում էին որպես դեղամիջոց՝ քթի արյունահոսությունից մինչև օձի թույնի դեմ: Արցախի տարածքում դեռ հնուց ի վեր ավանակի կաթը օգտագործում էին կապույտ հազի, բրոնխիալ ասթմայի բուժման համար: Առ այսօր բացակայում են ԱՀ-ի տարբեր շրջանների այլ ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանության վերաբերյալ տվյալներ:

Կարելի է ենթադրել, որ էնդեմիկ մանրէները և նրանց կողմից սինթեզվող մետաբիոտիկները կարող են հանդես գալ որպես նպատակային աղբյուրներ՝ ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության, անասնաբուժության, բժշկության և կենսապահածոյացման մեջ:

<u>Հետազոտության նպատակը և խնդիրները</u>

Սույն ատենախոսության նպատակն է ուսումնասիրել Արցախի Հանրապետության (ԱՀ) տնային տնտեսությունների տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված և ընտրված էնդեմիկ կաթնաթթվային բակտերիաների պրոբիոտիկ հատկությունները և հակամանրէային մետաբիոտիկների ազդեցությունը՝ պայմանական ախտածին և սնունդ փչացնող մանրէների աճման վրա: Այդ նպատակին հասնելու համար դրվել են հետևյալ խնդիրները՝

- Տարբեր շրջանների տնային տնտեսությունների կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթից կաթնաթթվային բակտերիաների անջատումը և ձևաբանական, ֆիզիոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրումը,
- ԿԹԲ-ների աճի գնահատումը տարբեր սննդարար միջավայրերում (պաստերիզացված, մանրէազերծված, յուղալի (3.6 %) և յուղազրկված կաթ, MRS արգանակ),
- ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրումը (աճը ջերմաստիճանային տարբեր պայմաններում, կենսունակությունը pH–ի լայն տիրույթում, կայունությունը լեղու և պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների, հակաբիոտիկների նկատմամբ, հակաօքսիդանտային և հակամանրէային ակտիվությունները),
- ԿԹԲ-ների աճեցումից ստացված կուլտուրալ հեղուկների մաքրումը՝ հակամանրէային ակտիվությամբ նյութերի (մետաբիոտիկների) անջատման նպատակով,
- Ստացված մետաբիոտիկների ազդեցության ուսումնասիրումը՝ հիվանդներից անջատված պայմանական ախտածին, սնունդ փչացնող մանրէների աճի վրա,
- Ընտրված ԿԹԲ-ների նույնականացումը,

- Նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար ընտրված ԿԹԲ-ների համակցությունների ստեղծումը և գիտաարտադրական փորձարկումները:

Գիտական նորույթը

- Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները պրոբիոտիկ հատկություններով գերազանցում են տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ներին,
- Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթի ԿԹԲ-ների կուլտուրալ հեղուկից անջատված մետաբիոտիկները ավելի բարձր արդյունավետությամբ են ճնշում հիվանդներից անջատված հակաբիոտիկակայուն պայմանական ախտածին մանրէների աճը,
- Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ գոմեշի կաթից անջատված *LAB sp.* KG1 մետաբիոտիկը բարձր արդյունավետությամբ ճնշում է սնունդը փչացնող հետազոտված մանրէների աճը,
- Առաջին անգամ ստեղծվել է համակցություն՝ գոմեշի կաթից անջատված *L.helveticus* KG5 և կովի կաթից անջատված *Ent. durans* P13 մանրէների հիման վրա՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար:

Կիրառական նշանակությունը

Առաջին անգամ ՀՀ տարբեր շրջանների ընտանի կենդանիների (ոչխար, այծ, գոմեշ, ավանակ) կաթից անջատվել և ուսումնասիրվել են պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված և արտադրական նշանակություն ունեցող ԿԹԲ-ների շտամներ: ***LAB sp.* KE1**, ***LAB sp.* KE2, *LAB sp.* KE3, *LAB sp.* KE4, *Ent. faecium* KE5, *Ent. durans* KE6, *LAB sp.* KE7, *LAB sp.* KE8, *Ent. faecium* KE9, *Ent. durans* KE10, *L. helveticus* KG5, *Ent. faecium* KV15-1, *LAB sp.* KV15-2, *Ent. faecium* KA3** և ***Ent. faecium* KAP1** մանրէները կարող են օգտագործվել նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքների արտադրության համար, իսկ ԿԹԲ ***LAB sp.* KG1** շտամը և դրա մետաբիոտիկը կարող է կիրառվել որպես սննդի կենսապահածոյացման միջոց:

Պաշտպանության ներկայացվող հիմնական դրույթները

1. Ընտանի կենդանիների կաթի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների ձևաբանական և ֆիզիոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրումը,
2. Անջատված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրումը՝
   - աճը տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում,
   - կայունությունը pH–ի՝ 2.0-9.0 տիրույթում,
   - կայունությունը լեղու 0.20-0.80% խտությունների ազդեցությունից հետո,
   - կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունից հետո (տրիպսին, պեպսին),
   - կայունությունը տարբեր հակաբիոտիկների նկատմամբ,
   - հակաօքսիդանտային ակտիվությունը,
   - ադհեզիա էպիթելային բջիջների վրա,
3. Պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ընտրված ԿԹԲ-ների աճեցումից ստացված կուլտուրալ հեղուկների մաքրումը և ստացված մասնաբաժինների համեմատական գնահատումը՝ կախված աճեցման պայմաններից,
4. Ընտրված մետաբիոտիկների հակամանրէային ազդեցության ուսումնասիրումը՝ պայմանական ախտածին թեսթ-կուլտուրաների, հիվանդներից անջատված ախտածին մանրէների, սնունդը փչացնող հետազոտված մանրէների աճի վրա,
5. Նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ների հիման վրա տարբեր համակցություննեի ստեղծումը:

Ատենախոսական աշխատանքի կապը գիտական թեմաների հետ

Ատենախոսությունը իրականացվել է ՀՀ Գիտության Պետական Կոմիտեի կողմից ֆինանսավորվող 11AA-004 «Հետազոտել Արցախի տարբեր շրջանների կաթնաթթվային մանրէների բազմատեսակությունը՝ որպես հիմք նոր սերնդի կենսապատրաստուկների համար» (2011-2013թթ.), 13AA-005 «ԼՂՀ կաթնամթերքներից ընտրված կաթնաթթվային բակտերիաների հակամանրէային հատկությունները՝ ընդդեմ մարդու և կենդանիների ախտածին մանրէների» (2013-2015թթ.), 16AA-03 «ԼՂՀ-ի ԿԹԲ-ներից և խմորասնկերից ստացված հակամանրէային պատրաստուկների օգտագործման հետազոտությունը» (2016-2018թթ.), Հայ օգնության ֆոնդի ԳԿՀԱՀ ANSEF microbio4583 «Հայաստանի և Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետության մի շարք շրջանների կաթնամթերքից և տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված էնդեմիկ կաթնաթթվային բակտերիաների համեմատական ուսումնասիրությունը» (2016թ.) դրամաշնորհների միջոցով, ինչպես նաև «Արցախի Գիտական Կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի բազային ֆինանսավորման շրջանակներում (2011-2017թթ.):

Ատենախոսի անձնական ներդրումը

Ատենախոսի անձնական ներդրումը ներառում է ձևակերպված խնդիրների իրականացում, թեմային առընչվող գիտական գրականության ուսումնասիրություն, հետազոտության արդյունքների վերլուծություն, քննարկում և ամփոփում, տպագրված գիտական հոդվածների և ատենախոսության ձևակերպում: Հիմնական խնդիրների դրվածքը և մեթոդների մշակումը իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի սննդի կենսաանվտանգության լաբորատորիայի առաջատար գիտաշխատող՝ կ.գ.թ. Ֆլորա Նուբարի Տխրունու ղեկավարությամբ:

Ատենախոսության քննարկումը

Ատենախոսության հիմնական դրույթները ներկայացվել են Միջազգային գիտաժողովներում՝ International Scientific Workshop Trends in microbiology and microbial biotechnology, Yerevan, 2014 October 5-8, 3rd International Scientific Conference on “Dialogues on Science”, Yerevan, 2015 June 23-26, International Young Scientists Conference “New Trends In Life Sciences”, September 27-29, 2016, Yerevan, Armenia, IV International Scientific Conference of Young Researchers "Biotechnology: Science and Practice", Yerevan, Armenia, September 28-30, 2017, «Կենսաքիմիայի անցյալը, ներկան և ապագան» երիտասարդ գիտնականների միջազգային գիտաժողով, Երևան նոյեմբերի 2-3, 2017: ՀՀ Գիտության Պետական Կոմիտեի կողմից ֆինանսավորվող 11AA-004, 13AA-005, 16AA-03, Հայ օգնության ֆոնդի ԳԿՀԱՀ ANSEF microbio4583 դրամաշնորհների ընթացիկ հաշվետվություններում, «Արցախի Գիտական Կենտրոն»

ՊՈԱԿ-ի գիտական և ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի գիտական խորհրդի նիստերում:

Աշխատանքի իրականացման վայրը

Աշխատանքը իրականացվել է ԱՀ «Արցախի Գիտական Կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի մանրէաբանական և ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի սննդի կենսաանվտանգության լաբորատորիաներում 2011-2017 թվականներին, որոշ փորձեր (մետաբիոտիկների ազդեցությունը հիվանդներից անջատված պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ) իրականացվել է ԱՀ ԱՆ «Համաճարակաբանության և հիգիենայի կենտրոն» ՊՈԱԿ-ում բժիշկ-մանրէաբանների հետ համատեղ: Փորձաարտադրական աշխատանքները կատարվել են «Արցախ Կաթ» ընկերությունում (քաղաք Ստեփանակերտ):

Ատենախոսության կառուցվածքը և ծավալը

Ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, նյութերից և մեթոդներից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումներից՝ շարադրված վեց գլուխներում, ամփոփումից, եզրակացություններից, գիտագործնական առաջարկություններից, օգտագործված գրականության ցանկից, որը ներառում է 108 անուն հղումներ և 4 հավելվածներից: Ատենախոսության հիմնական ծավալը կազմում է 116 տպագրական էջ, ներառում է 28 աղյուսակ, 13 նկար:

Հրապարակված գիտական աշխատությունները

Ատենախոսության հիմնադրույթները և բովանդակությունը ներկայացված են հրատարակված 17 գիտական աշխատանքներում՝ 8 հոդված, որոնցից 2-ը առանց համահեղինակների և 9 թեզիս՝ տպագրված Միջազգային գիտաժողովների ժողովածուներում:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1. *Էնդեմիկ կաթնաթթվային բակտերիաների կենսաբազմազանության օգտագործումը փարբեր երկրներում*

Յուրաքանչյուր տարածաշրջանին բնորոշ է իր ավանդույթներն ու սովորույթները, որոնք զարգացել են հազարավոր տարիների ընթացքում և խիստ տարբերվում են միմյանցից: Կաթնամթերքը, որպես սննդի բաղկացուցիչ մաս, արդեն վաղուց կապված է հասարակության տարբեր խմբերի հետ և համարվում է նրանց էթնիկ խմբի անբաժանելի մասը [49, 92]: Վերջին տարիներին հատուկ ուշադրություն է դարձվում ազգային ավանդական կաթնամթերքի միկրոֆլորայի ուսումնասիրությանը և դրանցից անջատված կաթնաթթվային բակտերիաների (առանձին կամ համակցված) հիման վրա նոր սննդամթերքի ստեղծմանը: Դա մանրէների կենսաբազմազանության պահպանման և սննդարար արժեքների փործնական օգտագործման ամենից տարածված եղանակներից մեկն է [90, 98, 33]:

Ներկայումս մի շարք գիտնականների հետազոտությունների ուշադրությունը սևեռված է Ասիայում, Աֆրիկայում, Մերձավոր Արևելքում, Հյուսիսային և Արևելյան Եվրոպայում արտադրվող կաթնամթերքների մանրէների կենսաբազմազանության ուսումնասիրությանը և դրանց հիման վրա նոր պրոբիոտիկ սննդամթերքների ստեղծմանը: Կաթնամթերքի մանրէաբանական ցուցանիշների ուսումնասիրություններ իրականացվում են այնպիսի երկրներում, ինչպիսիք են՝ Հնդկաստանը, Մարոկկոն, Իսպանիան, Ֆրանսիան, Նիգերիան, Եթովպիան, Մոնղոլիան, Թուրքիան, ԱՊՀ և այլն [44, 72, 96, 98, 64]: Ցույց է տրվել, որ կաթնամթերքի մանրէների կենսաբազմազանությունը տարբերվում է՝ ելնելով տարածաշրջանի բնակլիմայական պայմաններից: Այսպես, օրինակ, ցուրտ բնակլիմայական պայմաններ ունեցող շրջաններում ավանդական կաթնամթերքները պարունակում են հիմնականում մեզոֆիլ բակտերիաներ, ինչպիսին է *Leuconostoc* ցեղը, իսկ տաք, արևադարձային և մերձարևադարձային կլիմայական գոտիների երկրներում հիմնականում գերիշխում են այնպիսի թերմոֆիլ մանրէներ, ինչպիսիքն են *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերի

ԿԹԲ-ները [35, 64]: Մերձավոր Արևելքի քոչվորները յոգուրտի արտադրության համար՝ ըստ իրենց ավանդույթի, կաթը մերել են այնպիսի տարաներում, որոնք պատրաստվել են կենդանիների մաշկից, և յոգուրտը մնացել է այդ տարաներում մինչև սպառվելը: Յոգուրտի այդպիսի արտադրության ապացույցներ կարելի է գտնել բազմաթիվ երկրներում, ինչպիսիք են Բալկանները, Միջերկրական ծովի արևելյան հատվածի երկրները, Թուրքմենիստանը և Հնդկաստանը [10]:

Գիտական գրականության աղբյուրների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ավանդական կաթնամթերքների արտադրության մեջ օգտագործում են տվյալ տարածաշրջաններին բնորոշ և գերակշռող մանրէներ: Այսօր Սերբիայում արտադրվում է աշխարհի ամենից թանկ «Պուլե» պանիրը, որը պատրաստվում է **ավանակի** կաթից, որի արժողությունը 1 կգ համար կազմում է 1280 $ [108]:

Ալժիրում ԿԹԲ-ներ անջատվել են տափաստանային գոտու **այծի** կաթից: Ուսումնասիրվել է նրանց մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական առանձնահատկությունները: Այդ ԿԹԲ-ները պատկանել են *Lactococcus* (76.16%), *Streptococcus* (14.78%), *Leuconostoc* (8.6%) ցեղերին: Գերիշխող տեսակ է համարվել *Lactococcus lactis* ենթատեսակը: Ցուպիկաձև մանրէներից այծի կաթում հայտնաբերվել են *L. curvatus* (25.25%), *L. helveticus* (10.98%), *L. plantarum* (9.89%), *L. reuteri* (9.89%), *L. casei* (7.69%), *L.brevis* (5.49%), *L.bulgaricus* (5.49%), *L. paracasei* (4.39%) և այլ ԿԹԲ-ներ [44]: Հնդիկ գիտնականների աշխատանքներում ցույց է տրված, որ **գոմեշի** կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ները պատկանում են *Lactobacillus brevis* տեսակին, կովի կաթից՝ *Lactobacillus plantarum,* **այծի** և **գոմեշի** կաթի նմուշներում հիմնականում հանդիպում են *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum* տեսակները [56]:

ԿԹԲ-ներ են մեկուսացվել նաև Ադրբեջանում արտադրվող երկու տեսակի պանիրներից՝ «Ագդաշ» և «Շեկի» և յոգուրտից: Կենսաքիմիական թեստերի և մոլեկուլային մեթոդների կիրառմամբ հաստատվել է, որ այս պանիրներում գերակշռում են ԿԹԲ-ների հետևյալ չորս տեսակները՝ *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. paraplantarum*, *Ent. faecium*, մինչդեռ յոգուրտներում հանդիպում են հիմնականում՝ *L. bulgaricus, L.delbruecki, S.thermophilus* և *Ent.faecium* տեսակները [98]:

Բավականին լավ է ուսումնասիրված կովկասյան ավանդական կաթնամթերքի մածնի միկրոֆլորան (հոմանիշներ յոգուրտ, մածունի): Մածունը պետք է համարել պատրաստվում է կովի, այծի, ոչխարի, գոմեշի կաթի նմուշներից: Մածունը բնութագրվում է որպես կաթնաթթվային բակտերիաների և խմորասնկերի համակցություն: Ելնելով նրանից, որ մանրէների տարածվածությունը կախված է էկոլոգիական և աշխարհագրական պայմաններից, ապա առաջնային ուսումնասիրվել է պարենային ապրանքների միկրոֆլորան, որը արտացոլում է շրջակա միջավայրի կոնկրետ բնապահպանական պայմանները: Ցույց է տրվել, որ մածնի բաղադրությունը կախված է էկոլոգիական պայմաններից և կաթի տեսակից: Մածունը պատրաստում են տաքացված կամ պաստերիզացված կաթից, որը սառեցնում են մինչև 35^0 - 42^0C և ավելացնում պատրաստի մածունի մի մասը (մերան) (մոտավորապես 3-5 % / քաշ): Մածունից անջատվել էին ջերմասեր և հալոֆիլ ԿԹԲ-ներ, որոնք օգտագործվել են որոշ կաթնամթերքների արդյունաբերական արտադրության համար: Ի տարբերություն բուլղարական «թթու կաթի» (յոգուրտ), որը պարունակում է *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ենթատեսակը և *Streptococcus*, մածունի միկրոֆլորան ներառում է տարբեր տեսակի մանրէներ և նրանց սիմբիոտիկ համակեցություններ [10, 34]:

Վրացի գիտնականների կողմից անջատվել և ուսումնասիրվել են *Lactobacillus delbrueckii subsp lactis, L. acidophilus, L. casei, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis subsp. lactis, L. lactis subsp diacetylactis, L. lactis subsp cremoris, Enterococcus durans, L. delbruekii* մանրէները, սակայն *L. bulgaricus* ԿԹԲ-ն չի հայտնաբերվել [48]: Մածունի մանրէաբանական կազմը և վերջնական արտադրանքը էապես տարբերվում է Կովկասի տարբեր շրջաններում, սակայն այն բավականին կայուն և բնորոշ է իր տարածաշրջանին [34]: Ի տարբերություն յոգուրտի, որը հիմնականում պարունակում է *L. delbruekii subsp. bulgaricus* ենթատեսակը և *Streptococcus thermophilus* ԿԹԲ-ները՝ մածունի միկրոֆլորան կազմում են տարբեր տեսակի մանրէներ: Կարևոր նշանակություն ունի այն, որ մածունի մանրէաբանական կազմը տարբերվում է տարբեր կովկասյան տարածքներում, բայց շատ կայուն և բնորոշ է ծագման տարածաշրջանում: Մի շարք հետազոտողներ տարբեր ձևով են նկարագրել մածունի ստացման համար կաթի մերման միկրոֆլորան՝ *L. delbruekii subsp. lactis, L. delbruekii* *bulgaricus, L. acidophilus, Streptococcus thermophilus, Lact. lactis, Lact. lactis subsp.cremoris,* և այլ տեսակի խմորասնկեր *Geotrichum candidum, Saccharomyces, candida,* [64, 34]:

Մի շարք հեղինակներ ցույց են տվել, որ մածունում հայտնաբերվել են նաև այլ մանրէներ, այդ թվում՝ *L. helveticus, L. paracasei* և *Leuconostoc lactis* [40]:

Վերջին տարիներին Կովկասի տարբեր շրջաններում ծավալուն հետազոտություններ են իրականացրել մածունի միկրոֆլորայի նույնականացման ուղղությամբ: Հեղինակները ցույց են տվել, որ *Lactococcus* և *Enterococcus* ցեղերը հայտնաբերվել են բազմաթիվ նմուշներում: Շատ նմուշներ էլ ներկայացվել են *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերով (>80%): Երբեմն նկատվում են *Pseudomonas, Rummeliibacillus, Erwinia, Wautersiella* և *Yersinia* ցեղի մանրէներ: Մածունի տարբեր նմուշներում խմորասնկերի պոպուլյացիան նույնպես մեծ դեր ունի իրեն տեսակային կազմով: Բոլոր նմուշներում քանակապես ամենից շատը *Kluyveromyces marxianus* և *Saccharomyces cerevisiae* շտամերն են: Նշվում է, որ կախված կաթի տեսակից և տարածաշրջանից կարող է լինել խմորասնկերի մեծ բազմազանություն: Օրինակ, Հայաստանում **ոչխարի** կաթից ստացված մածունի նմուշներում գերակշռում է *Lodderomyces elongisporus,* Վրաստանում **այծի** կաթից ստացված մածունի նմուշներից մեկուսացրել են *Kluyveromyces lactis, Candida zeylanoides* և *Candida famata* խմորասնկերը, Հայաստանում այծի կաթից ստացած որոշ մածունների նմուշներից մեկուսացվել են *Kluyveromyces lactis* և *Naumovia castellii*, իսկ **ոչխարի** մածունից՝ *Pichia kudriavzevii*, իսկ Արցախում **այծի** կաթից ստացված մածունի տարբեր նմուշներից մեկուսացրել են *Candida parapsilopsis, Candida albicans* և *Pichia guilliermondii* շտամները: Հեղինակները հանգել են այն եզրակացության, որ Հայաստանի և Վրաստանի տարբեր մարզերի ԿԹԲ-ների և խմորասնկերի կենսաբազմազանությունը էապես տարբերվում է ԱՀ ԿԹԲ-ների և խմորասնկերի կենսաբազմազանությունից [48]:

Վերջին տարիներին Արցախի տարբեր շրջաններում կատարված աշխատանքները ցույց տվեցին, որ կովի կաթից և կաթնամթերքից անջատված ԿԹԲ-ները հիմնականում ներկայացված են Enterococcus և Lactobacillus ցեղի մանրէներով

[37,100]: Ցույց է տրված, որ անջատված մանրէները իրենց մորֆոֆիզիոլոգիական հատկություններով տարբերվում են ՀՀ-ում կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ցեղային և տեսակային կազմից, որոնց մեծ մասը պատկանում էին Lactobacillus ցեղին [19]: Այդ տարբերությունը կարելի է բացատրել ԱՀ և ՀՀ-ի էկոլոգիական մեկուսացվածությամբ, բնակլիմայական պայմաններով և աշխարհագրական դիրքով:

1.2. *ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունները և նրանց ազդման ուսումնասիրությունը*

Պրոբիոտիկների կազմում որպես պրոբիոնտ-օրգանիզմներ օգտագործում են առավել հաճախ կաթնաթթվային բակտերիաները և բիֆիդոբակտերիաները, հազվադեպ պրոպիոնաթթվային բակտերիաները, էնտերոկոկերը, խմորասնկերը, բացիլները և այլ: Դասական պրոբիոնտներ են՝ *Bacillus subtilis, Bifidobacterium (adolescentis, bifidum, breve, infantis, longum), Enterococcus (faecalis, faecium), Escherichia coli, Lactobacillus (acidophilus, casei, bulgaricus, lactis, rhamnosus, salivarius, plantarum), Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Saccharomyces boulardi, Streptococcus (cremoris, lactis*) *Clostridium butiricum* [57]: Այս մանրէների հիման վրա պատրաստուկները կարող են պարունակել ինչպես մեկ տեսակի պատկանող մանրէներ՝ մոնոպրոբիոտիկներ, այնպես էլ մի քանի տեսակի մանրէներ՝ ասոցացված պրոբիոտիկներ [62]:

Պատրաստուկները, որոնք պատրաստված են պրոբիոնտ-բակտերիաների հիման վրա, օգտագործվում են երեխաների և մատղաշ կենդանիների աղեստամոքսային հիվանդությունների կանխարգելման համար, ինչպես նաև աղիքային միկրոբիոտան կարգավորելու համար՝ հակաբիոտիկների և քիմիական միջոցների երկարատև թերապիայից հետո, խթանում են բնական (ախտածին) մանրէների աճը և բարձրացնում դիմադրողականությունը:

Բակտերիաների ներուժը որպես պրոբիոտիկներ խիստ տարբերվում է, նույնիսկ, նույն տեսակներին պատկանող մանրէների մոտ: Դրանք կարող են տարբերվել ադհեզիայի, հատուկ իմունոլոգիական ազդեցությունների և առողջության բարելավման այլ մեխանիզմներով [82]: Պրոբիոտիկ բակտերիաների շատ տեսակներ ընդունակ են երկար ժամանակ գոյատևել աղեստամոքսային համակարգում և սոսնձվել ստամոքսի պատերի լորձաթաղանթին (ադհեզիա) [58]:

Որպես պրոբիոտիկ օգտագործվող մանրէները դասակարգում են չորս հիմնական խմբի [29].

- Մանրէներ, որոնք արտադրում են կաթնաթթու և պրոպիոնաթթու (Lactobacterium, Bifidobacterium, Propionobacterium, Enterococcus*)* և այլ,
- Սպորառաջացնող աէրոբ մանրէներ (*B. subtilis, B. cereus, B.. licheniformis, B. coagulans),*
- Խմորասնկեր, որոնք առավել հաճախ օգտագործվում են որպես հիմք պրոբիոտիկների պատրաստման համար,
- Նշված մանրէների համակցություններ:

Պրոբիոտիկների ազդեցության մեխանիզմի էությունը կայանում է նրանում, որ դրանց օգտագործման ժամանակ աղեստամոքսային ուղում մեծանում է մի շարք օգտակար բակտերիաների քանակը, որոնք ճնշում են ախտածին և պայմանական ախտածին մանրէների աճը, բարելավում են բնիկ միկրոֆլորայի կազմը, նպաստում են բարենպաստ միջավայրի ստեղծմանը՝ աղիների նյութափոխանակության համար: Պրոբիոտիկ ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է նրանով, որ դրանք բնակեցնում են աղիների լորձաթաղանթը՝ աղիքային միկրոֆլորայից դուրս մղելով ախտածին մանրէներին [85, 75, 71]: Աղիների միկրոֆլորայի ազդեցության մեխանիզմները առավել ուսումնասիրված են կաթնաթթվային բակտերիաների օրինակով, և ընդհանուր առմամբ կիրառելի են աղիների նորմալ միկրոբիոտայի այլ ներկայացուցիչների նկատմամբ: Պրոբիոնտ մանրէների ազդեցության մեխանիզմները իրականացվում են չորս հիմնական ուղղություններով [46].

- Ոչ ցանկալի միկրոօրգանիզմների ճնշմամբ,
- Մանրէների նյութափոխանակության փոփոխությամբ,
- Տեր օրգանիզմի իմունային համակարգի խթանմամբ,
- Արտաքին և ներքին սուբստրատների և նյութափոխանակության արգասիքների թունազրկմամբ:

Արդյունավետ պրոբիոտիկների արտադրությունը հիմնված է կաթնաթթվային բակտերիաների, բիֆիդոբակտերիաների, հազվադեպ պրոպիոնաթթվային բակտերիաների, էնտերոկոկերի և այլ մանրէների վրա: Նրանք պետք է օժտված լինեն որոշակի հատկություններով, ապահովեն պրոբիոնտների կենսունակությունը աղեստամոքսային ուղում, ճնշեն անցանկալի միկրոֆլորայի զարգացումը, օժտված լինեն ֆերմենտատիվ ակտիվությամբ, բարձր արտադրողականությամբ: Որպես պրոբիոտիկներ օգտագործվող միկրոօրգանիզմները պետք է բավարարեն հիմնականում հետևյալ պահանջներին [15].

- Նրանք պետք է անջատված լինեն մարդու և այլ կենդանիների օրգանիզմից, որոնց հանդեպ կիրառվելու են,
- Պետք է օժտված լինեն դրական ազդեցությամբ օրգանիզմի վրա, ինչը պետք է հաստատված լինի լաբորատոր ուսումնասիրություններով,
- Նրանք պետք է օժտված լինեն՝ գաղութացման ներուժով, այսինքն գոյատևեն մարսողական համակարգում մինչև առավելագույն դրական ներգործության հասնելը, կայուն լինեն ցածր pH-ի արժեքների, լեղաթթուների հանդեպ, ինչպես նաև սոսնձվեն աղիների լորձաթաղանթներին,
- Պետք է ունենան կայուն բնութագրիչ հատկություններ, ինչպես կլինիկական, այնպես էլ արտադրական ոլորտում,
- Երկարատև օգտագործման դեպքում չպետք է առաջացնեն կողմնակի երևույթներ,
- Պետք է ունենան աճման և բազմացման բարձր արագություն՝ աղեստամոքսային համակարգի պայմաններին մոտ պայմաններում: In vitro նրանց կուլտիվացման և կենսազանգվածի կուտակման համար անհրաժեշտ է ստեղծել այնպիսի պայմաններ, որոնք առավելագույնը մոտ են աղիքային միկրոբիոտայի պայմաններին,
- Մեծ քանակություններով ներմուծման դեպքում նրանք պետք է օժտված լինեն աղիքի լուսանցքից դեպի մանրէ ներթափանցելու ցածր ընդունակությամբ,

- Պետք է ունենան կայուն գենետիկական և ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական հատկություններ,
- Պետք է ախտածին չլինեն և պատկանեն Գրամ-դրական մանրէների խմբին,
- Պետք է արտազատեն հակա –*E.coli* գործոններ:

1.3. *Տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ, կով) կաթի ընդհանուր բնութագիրը*

Վերջին տարիներին մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում տարբեր կենդանիներից ստացված կաթնամթերքների նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների ուսումնասիրությունը: Տարբեր կենդանիների կաթը տարբերվում է իրենց կազմով, որը կախված է բազմաթիվ գործոններից՝ տարվա եղանակից, կերատեսակներից, տարածաշրջանից, կլիմայական պայմաններից և այլն: Բավական լավ ուսումնասիրվել է տարբեր կենդանիներ կաթի քիմիական բաղադրությունը [77, 84]: Գյուղատնտեսական կենդանիների կաթի քիմիական բաղադրությունը բերված է աղյուսակ 1-ում:

Ավանակի կաթը օժտված է բարձր հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ: Այն պարունակում է լիպոլիտիկ ֆերմենտներ, որոնք աղեստամոքսային համակարգում ճեղքում են ճարպային մոլեկուլները: Այն հարուստ է իմունոգլոբուլիններով, համարվում է բնական հակաբիոտիկ: Ավանակի կաթը իր բաղադրությամբ մոտ է մայրական կաթին: Այն վերականգնում է աղեստամոքսային համակարգի միկրոբիոտան, բուժում է շնչառական մի շարք հիվանդություններ, օրինակ ասթման, ինչպես նաև մաշկային որոշ հիվանդություններ, ամրապնդում է իմունիտետը, խթանում բջիջների աճը:Այն պարունակում է մեծ քանակությամբ վիտամին A, C, B_{12}, E և D, կալցիում և ֆոսֆոր, ինչպես նաև օմեգա-3 և օմեգա-6 ճարպաթթուներ, որոնք խթանում են առողջ մաշկի պահպանմանը և դարձնում է անփոխարինելի թոքաբորբի, բրոնխիտի և շնչառական ուղիների այլ հիվանդությունների բուժման համար [88,84]:

Աղյուսակ 1.

Գյուղատնտեսական կենդանիների կաթի միջին քիմիական բաղադրությունը

Կաթ	Չոր նյութ	Ճարպ	Սպիտակուց	Կաթնաշաքար	Մոխիր	Կալորիականությունը 100գ կաթում(կկալ)
	(%)					
ավանակ	10,4	1,7	1,8	6,5	0,4	50
այծ	12,8	3,8	3,7	4,5	0,8	70
ոչխար	15,9	6,0	5,0	4,0	0,9	93
գոմեշ	17,8	7,5	4,5	5,0	0,8	109
կով	12,4	3,7	3,3	4,7	0,7	67

Այծի կաթը իր բաղադրությամբ բավականին տարբերվում է կովի կաթից: Այն տարբերվում է հանքային նյութերի և վիտամինների պարունակությամբ: Այծի կաթում կան հետևյալ տարրերը՝ կալիում (145 մգ), կալցիում (143 մգ), ֆոսֆոր (89 մգ), նատրիում (47 մգ), մանգան (14 մգ), երկաթ (100 մկգ), պղինձ (20մկգ), վիտամին B_1 (0,04 մգ), B_2 (0,14 մգ), B_{12} (0,1 մկգ), C (2մգ), A (0,07մգ) և ավելի շատ հակաօքսիդանտներ: Այծի կաթի քիմիական բաղադրությունը կախված է կերատեսակից և դրա պարունակությունից, տարիքից, առողջական վիճակից, ցեղային պատկանելիության և կաթնատվության ժամանակաշրջանից: **Ոչխարի** կաթը սննդարար է և համեղ: Այն ունի նուրբ, քաղցրավուն համ: Ոչխարի կաթը պարունակում է երկու անգամ ավելի շատ հանքային տարրեր, կալցիում, ցինկ, ֆտոր և B խմբի վիտամիններ, քան կովի ու այծի կաթը: **Գոմեշի** կաթը տարբերվում է կովի կաթից իր բաղադրությամբ՝ հատկապես յուղի և սպիտակուցների պարունակությամբ ու չոր նյութի զանգվածով: Այն ավելի թանձր է կովի կաթից, յուղայնությունը կազմում է 8—14% [77]:

Այսպիսով կաթի քիմիական կազմը տարբերվում է տարբեր ընտանի կենդանիների մոտ, ամենից ցածր բաղադրություն ունի ավանակի կաթը (չոր նյութ, ճարպ, սպիտակուց և այլն), իսկ ամենաբարձրը **գոմեշի** մոտ է: Կարելի է ենթադրել, որ այդ բաղադրության տարբերությունը կարող է ազդել մանրէների որոշ հատկությունների վրա:

1.4. *Մետաբիոտիկների և պրոբիոտիկների համեմատական բնութագիրը*

Հայտնի է, որ պրոբիոտիկ մանրէների դրական դերը պատկանում է բակտերիալ բջիջներին և նրանց մետաբոլիտներին [28]: Մետաբիոտիկները կարող են լինել շատ ավելի նախընտրելի, քան լիոֆիլիզացրած տարբեր պրոբիոտիկներ, որոնց ակտիվանալու և նյութափոխանակության արգասիքներ արտադրելու համար հարկավոր է մոտավորապես ութից տասը ժամ: Այս փաստը կարևոր նշանակություն ունի լուծի դեպքում, որը ուղեկցվում է միկրոբիոտայի խախտմամբ: Դիսբակտերիոզի և լուծի դեպքում առավել արդյունավետ է մետաբիոտիկների օգտագործումը: Մետաբիոտիկները արդեն իսկ պարունակում են բնական միկրոբիոտայի հայտնի ներկայացուցիչների ակտիվ մետաբոլիտներ: Աղիների մեջ ներթափանցելուց հետո նրանք սկսում են գործել անմիջապես, չպահանջելով ակտիվանալու համար ավելորդ ժամանակ: Մետաբիոտիկները լինելով նյութափոխանակության արգասիքներ այլ ոչ թե կենդանի օրգանիզմներ չեն քայքայվում ստամոքսահյութի, մարսողական ֆերմենտների ազդեցությունից և չեն վնասվում հակաբիոտիկների համատեղ ընդունումից [31]: Մետաբիոտիկները ընդունակ են ոչ միայն հարմարեցնել աղիքային միկրոբիոտայի վիճակը, այլև դրականորեն փոխել նրա ֆունկցիոնալ վիճակը, որը պայմանավորված է տարբեր մանրէների նյութափոխանակության արգասիքներով [29]:

Որոշ հեղինակներ մետաբիոտիկները նկարագրել են որպես պրոբիոտիկ մանրէների մետաբոլիտներ, որոնք ստեղծում են իրենց համար առավել բարենպաստ միջավայր՝ ապահովելով աղիքային էպիթելի սնուցումը, աջակցում են աղիների պատնեշի ամբողջականությանը և խթանում մարդու հակաբորբոքային իմունային համակարգի գործունեությունը [94]:

Ըստ հեղինակների պրոբիոտիկները և մետաբիոտիկները տարբերվում են իրարից հետևյալ հատկություններով [91].

Պրոբիոտիկները՝

1. Աղիներ են ներթափանցում ստամոքսի ագրեսիվ պայմաններով,
2. Կենդանի մնացած բակտերիաների հարմարեցում,

3. Բակտերիաների բազմացում,
4. Բակտերիաների կարևոր նյութերի սինթեզ և մեկուսացում,
5. Միկրոբիոտայի ազդանշանային նյութերի օգտագործում և բազմացում,
6. Կարգավորում են աղեստամոքսային ուղին և ակտիվացնում իմունային համակարգը:

Մետաբիոտիկները՝

1. Աղիներ են ներթափանցում ստամոքսի ագրեսիվ պայմաններով,
2. Օգտագործում են նորմալ միկրոբիոտայի ակտիվ մետաբոլիտները,
3. Կարգավորում են աղեստամոքսային ուղին և ակտիվացնում իմունային համակարգը:

Այսպիսով, կարելի է ենթադրել, որ մետաբիոտիկների օգտագործումը կարող է փոխարինել հակաբիոտիկներին, որոնց լայնամասշտաբ օգտագործումը բացասական ազդեցություն է թողել մարդու իմունային համակարգի վրա: Դրանց կազմի մեջ մտնող ամենակարևորը բջջային բաղադրիչներն են, մետաբոլիտների և պրոբիոտիկ մանրէների ազդանշանային մոլեկուլները:

1.5. ***ԿԹԲ-ների և մետաբիոտիկների դերը մարդու նորմալ միկրոբիոտայում***

Տարբեր տեսակի մանրէների միջև տեղի են ունենում սիմբիոտիկ փոխհարաբերություններ՝ չեզոքացում, մրցակցություն, կոմենսալիզմ, պարազիտիզմ, մուտուալիզմ և այլն: Այս փոխհարաբերությունների ընթացքում միկրոֆլորան դառնում է կայուն և օգնում աղիքային վարակների նկատմամբ կայունության պահպանմանը: Տարբեր հեղինակներ այս հատկությունը անվանում են «բակտերիային անտագոնիզմ», «բակտերիային միջամտություն», «պաշտպանիչ արդյունավետություն», «մրցակցային բացառություն» [38]:

Նորմալ միկրոբիոտան բազմաբնույթ ազդեցություն է թողնում օրգանիզմի պաշտպանական, հարմարողական, նյութափոխանակության գործունեությունների վրա և պահպանում ներքին միջավայրի կայունությունը: Նորմալ միկրոբիոտայի մանրէները լորձաթաղանթի բջիջներին պաշտպանում են ախտածին մանրէների ներթափանցումից և բիֆիդոբակտերիաների (ԲՖԲ) և ԿԹԲ-ների գաղութացման հատկությունը դառնում է լործաթաղանթի էկոլոգիական պատնեշի բաղկացուցիչ մասը: Նորմալ միկրոբիոտայի մանրէների անտոգոնիստ հատկությունը պայմանավորված է Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական բակտերիաներով, ինչպես նաև՝ խմորասնկերով: ԲՖԲ և ԿԹԲ մանրէների անտոգոնիստ հատկությունը պայմանավորված է կաթնաթթվի, բակտերիոցինների և ջրածնի պերօքսիդի առաջացմամբ, կուլտուրալ հեղուկի մեջ հակամանրէային հատկությամբ օժտված կենսաարգասիքների առկայությամբ, օրգանական թթուներով պեպտիդային միացություններով [83, 29, 13,14]:

Կաթնաթթվային մանրէների ֆերմենտներն օժտված են տրիպսինի և պրոտեազների նկատմամբ կայունությամբ և միևնույն ժամանակ չեն ազդում տիրոջ ֆերմենտային համակարգի հատկությունների վրա :

Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները ընդունակ են առաջացնելու պերօքսիդ, որը հանդիսանում է ախտածին մանրէների նկատմամբ ազդեցության գործոն [14]: ԲՖԲ-ների բնակության հիմնական վայրը հաստ աղին է: Դրանք հանդես են գալիս որպես պատնեշ աղիներում ախտածին և նեխում առաջացնող մանրէների նկատմամբ: ԲՖԲ-ներն սինթեզում են նաև աղիներում գտնվող մակրոօրգանիզմներին անհրաժեշտ մի շարք ֆերմենտներ, ճարպաթթուներ և վիտամիններ [8]:

Վերջին տարիների աշխատություններում ցույց է տրվել, որ մի շարք աղեստամոքսային հիվանդությունների բուժման համար օգտագործվում են ԿԹԲ-ներից (*L. acidophilus, L. plantarum*), ԲՖԲ-երից և խմորասնկերից (*Saccharomyces boulardii*) ստացված կենսապատրաստուկներ [101, 92]:

ԿԹԲ-ներն առաջացնում են անտոգոնիստիկ գործոններ, որոնք իրենց մեջ ներառում են հակաբիոտիկային նյութեր և բակտերիոցիններ: Դրանք առաջացնում են նաև մանրէների աճը կասեցնող հատկություններով օժտված քացախաթթու, մրջնաթթու, կաթնաթթու, ջրածնի պերօքսիդ [107, 102]: Նյութափոխանակության ժամանակ դրանցից շատերը միջավայրի pH դարձնում են 4.5 և ավելի ցածր: Դրա հետ մեկտեղ,ԿԹԲ-ները նյութափոխանակության արգասիքների առաջացման ընթացքում նվազեցնում են օքսիդավերականգնող հատկություններին, որն իր հերթին նպաստում է ավելի տարածական կասեցնող հատկության, մասնավորապես՝ օբլիգատ և ֆակուլտատիվ անաերոբ բակտերիաների նկատմամբ [83, 51]:

ԿԹԲ-ների որոշ ներկայացուցիչներ, մասնավորապես *L. acidophilus* մանրէն, օժտված է աղիների ախտածին մանրէների նկատմամբ ճնշող հատկությամբ: Այդ հատկությունը պայմանավորված է այնպիսի հակաբիոտիկների առաջացմամբ, ինչպիսիք են՝ ացիդոֆիլինը, լակտոլինը, ացիդոլինը: Ացիդոլինը կաթնաթթվի հետ ապահովում է բարձր հակամանրէային ազդեցություն՝ աղիքային ախտածինների *E. coli, Salmonella typhimurium, Staph. aureus, Clostridium perfringens* և մի շարք այլ սպորավոր մանրէների նկատմամբ [74]:

Ուսումնասիրությունների ընթացքում հայտնի է դարձել, որ *L.acidophilus* շտամը առաջացնում է հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված նյութ, որը նվազեցնում է *Helicobacter pylori* մանրէի կենսունակությունը, իսկ *L. rhamnosus* շտամը առաջացնում է նյութ, որը կասեցնող ազդեցություն է ցուցաբերում մի շարք Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական մանրէների նկատմամբ [74, 27, 26]: *L. rhamnosus* և *L. rhamnosus* կուլտուրաները ոչ միայն արտադրում են հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված նյութեր, այլ նաև ըստ In vitro հետազոտությունների, խոչընդոտում են որոշ աղիքային ախտածին մանրէների ադհեզիան՝ աղիների էպիթելերի վրա [50,4]:

ԿԹԲ-ները սինթեզում են սպիտակուցանման միացություններ՝ բակտերոցիններ: Բակտերոցիններ հայտնաբերվել են մի շարք ԿԹԲ-ների մոտ [79]: Օրինակ՝ *L. fermenti* տեսակի կաթնաթթվային բակտերիայի սինթեզած բակտերիոցինը *L. acidophilus* մանրէների հանդեպ ցուցաբերում է հակամանրէային ազդեցություն և չի կորցնում իր ակտիվությունը pH-ի լայն տիրույթում: Բացի դրանից *L. fermenti* շտամի սինթեզած բակտերիոցինը զգայուն է տրիպսինի և պեպսինի նկատմամբ, ջերմակայուն է, կարողանում է դիմակայել 96°C ջերմությանը, զգայուն է միզաթթվի և լիզոցիմի նկատմամբ [57, 86, 69]: *L. plantarum* տեսակը սինթեզում է պլանտարիցին C, որը բակտերիցիդ ազդեցություն ունի և կասեցնում է *Leuconostoc, Pediococcus* և *Streptococcus* ցեղերի մանրէների աճը: *L. plantarum* շտամից սինթեզված պլանտարիցին C-ն ունի 3500 Դ մոլեկուլային կշիռ և օժտված է լայն անտոգոնիստական հատկություններով [58]:

Հայտնի է, որ զարգացած պետություններում պայքար է տարվում առավել վտանգավոր և արագ տարածվող վարակիչ հիվանդությունների դեմ: Այսօր մեծ ուշադրություն է դարձվում սննդամթերքների՝ *Salmonella* sp., *L. moncytogenes, MRSA* (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) մանրէներով վարակվածության դեպքերին և հակաբիոտիկակայուն մանրէների հայտնաբերմանը [68, 59, 65]: Վերջին տասնամյակներում մարդու և կենդանիների մոտ բժշկական նպատակներով հակաբիոտիկների լայնածավալ կիրառումը հանգեցրել է հակաբիոտիկների նկատմամբ բազմակի կայունություն դրսևորվող մանրէների տարածմանը: Վերջին տարիների ընթացքում մետիցիլինի հանդեպ կայուն *Staphylococcus aureus* և *Proteus mirabilis* մանրէները ամբողջ աշխարհում բնակչության առողջության վնասման պատճառ են դարձել: Մանավանդ *Staphylococcus aureus* մանրէն կարող է կենսաթաղանթներ ձևավորել բժշկական սարքավորումների մակերեսին՝ օրինակ, սրտի վիրահատման սարքերի, ներերակային ներարկիչների և այլն [65]: *Proteus* տեսակները հաճախակի հանդիպում են մարդու աղեստամոքսային համակարգում և հանդիսանում է նորմալ միկրոբիոտայի բաղկացուցիչ մասը՝ *E. coli* և *Klebsiella* տեսակների հետ միասին: *Proteus* տեսակի մանրէները հաճախակի հանդիպում են նաև բժշկական հիմնարկներում երկարատև բուժում ստացող մարդկանց մոտ: *Proteus* տեսակների հարուցիչների 90%-ը հանդիսանում է *P. mirabilis* մանրէն: *Proteus vulgaris* և *Proteus penneri* տեսակներ մեկուսացվել են այն հիվանդներից, որոնք ունեն թույլ իմունային համակարգ կամ ստացել են երկարատև բուժում:

Ցույց է տրված, որ *L.rhamnosus* BTK-109 ԿՀ-ից անջատվել են մասնակի մաքրված կենսաբանական ակտիվ պեպտիդներ (բակտերիոցիններ) և հետազոտվել է նրանց հակամանրէային ակտիվությունը հակաբիոտիկակայուն ախտածին մանրէների նկատմամբ: Հետազոտության արդյունքները թույլ են տվել հեղինակներին առաջարկել դրանց օգտագործումը որպես այլընտրանքային միջոցներ՝ վարակային հիվանդությունների կանխարգելման համար, հակաբիոտիկների փոխարեն [41, 73]:

Այսօր ուսումնասիրություններ են տարվում ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող բակտերիոցինների հայտնաբերման ուղղությամբ, որոնք կարող են հանդես գալ որպես հակաբիոտիկների փոխարինիչներ [47]:

1.6. *Պրոբիոտիկների և մետաբիոտիկների օգտագործումը ֆունկցիոնալ սննդամթերքում*

Ֆունկցիոնալ սնունդը հատուկ նշանակության բնական կամ արհեստական ծագմամբ մթերք է, որը նախատեսված է ամենօրյա օգտագործման համար և ազդում է ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաների, կենսաքիմիական ռեակցիաների և մարդու վարքագծի վրա, պահպանում է նրա ֆիզիկական, հոգեկան առողջությունը և նվազեցնում հիվանդությունների առաջացման վտանգը [4, 61]:

Ֆունկցիոնալ նշանակության սննդամթերքների արտադրությունը պատկանում է բարձր տեխնոլոգիական արտադրությունների բնագավառներին: Սրանով կարելի է բացատրել արդյունաբերությամբ զարգացած երկրներում դրանց հանդեպ հետաքրքրությունը (Ճապոնիա, Ֆրանսիա, Գերմանիա, ԱՄՆ, Ռուսաստան):

Հաստատվել է, որ ֆունցիոնալ սննդամթերքը դրական ազդեցություն ունի օրգանիզմի համար: Ֆունցիոնալ սննդամթերքը լայն կիրառություն ունի զարգացած և զարգացող երկրներում: «Ֆունկցիոնալ սննդամթերք» տերմինը ծագել է 1980-ից Ճապոնիայում: Այդ սննդամթերքները պարունակում են հավելյալ բաղադրիչներ, որոնք ունեն դրական ազդեցություն սպառողի առողջության վրա: Ֆունկցիոնալ սննդամթերքը կարող է ներառել պրոբիոտիկներ, պրեբիոտիկներ, սիմբիոտիկներ և մետաբիոտիկները [30, 61]:

Պրոբիոտիկ շտամները լայնորեն օգտագործվում են կաթնամթերքի արտադրությունում, որպես նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ: Այսօր, ավելի քան հարյուրավոր արտադրատեսակներ, որոնք պարունակում են պրոբիոտիկներ, այդ թվում, պաղպաղակը, ֆերմենտացված կաթը, պանիրը, մանկական խառնուրդները, մրգային հյութերը դարձել են հասանելի ամբողջ աշխարհի համար: Պրոբիոտիկները հասանելի են փոշիների, հաբերի կամ պատիճների տեսքով, որոնք հանդես են գալիս որպես կենսաակտիվ սննդային հավելումներ, որոնք հաճախ արտադրվում են սառեցման-չորացման եղանակով [14,16]: Պատիճների կամ հաբերի տեսքով արտադրանքը հաճախ պարունակում է ոչ մեծ քանակությամբ կենսունակ պրոբիոտիկ բջիջներ: Սննդամթերքներում ներառված պրոբիոտիկները ավելի բարձր ազդեցություն են ունենում [53, 55]:

Պրեբիոտիկները համարվում են չմարսվող սննդային բաղադրիչներ, որոնք շահավետ են ազդում տեր օրգանիզմի վրա՝ ընտրողաբար խթանելով մեկ կամ սահմանափակ թվով բակտերիաների աճը աղիներում: Սինբիոտիկները պրեբիոտիկների և պրոբիոտիկների համակցություն է, որը ազդում է աղեստամոքսային համակարգի վրա՝ խթանելով կամ ակտիվացնելով միկրոօրգանիզմների նյութափոխանակությունը [56]:

Եվրոպայի ESPGHAN սննդամթերքի կոմիտեն կլինիկական հետազոտությունների տվյալները համակարգել և եկել է այն եզրակացության, որ պրոբիոտիկները և պրեբիոտիկները, որպես հավելումներ անվտանգ են և կարող են հանդես գալ ֆունկցիոնալ սննդամթերքների կազմում [43]:

Հեղինակների կողմից հետազոտվել և համեմատվել են ԿԹԲ-ների և խմորասնկերի որոշ շտամների ԿՀ-ներից ստացված մասնակի մաքրված կենսաարգասիքների հակամանրէային ազդեցությունները: Անցկացված հետազոտությունները ցույց են տվել, որ բակտերիաների և խմորասնկերի ԿՀ-ներից ստացված հակամանրէային կենսաարգասիքները (մետաբիոտիկները) ունեն հակամանրէային ակտիվության ազդեցություն՝ գյուղատնտեսական կենդանիների և թռչունների օրգաններից անջատված ախտածին մանրէների վրա՝*Salmonella sp., E.coli, Staphilococcus aureus, Clostridium sp., Streptococcus sp., Enterococcus sp., Enterococcus cloacae, Pseudomonas aeruginosa, Shigella sp.:* Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ հակամանրէային մետաբիոտիկների ազդեցությունը ախտածին շտամների վրա համեմատելի է հակաբիոտիկների հետ: Հակամանրէային արգասիք 1-ի ազդեցությունը համեմատելի է էնրոֆլոքսացին հակամանրէային պատրաստուկի հետ և ավելի արդյունավետ է մյուսների հետ համեմատությամբ՝ էրիթրոմիցին, ստրեպտոմիցին: Հետազոտությունների ընթացքում ստացված դրական արդյունքները թույլ են տվել իրականացնել գիտաարտադրական հետազոտություններ թռչնաֆաբրիկաններում և բակային տնտեսություններում: Հետազոտությունների ընթացքում պարզվել է, որ օգտագործվող կենսաարգասիքը ունի բուժիչ ազդեցություն և նպաստում է խոզերի և թռչունների 5% քաշաճին [4]:

Այսպիսով, ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանության ուսումնասիրությունը լայն հեռանկարներ է բացում նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի և մետաբիոտիկների ստացման համար, որոնք կարող են փոխարինել հակաբիոտիկներին:

Սակայն գրականության մեջ շատ քիչ տվյալներ կան այլ ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվության վերաբերյալ:

Դեռ հնուց հայտնի է, որ այդ կենդանիների կաթը ունի բուժիչ նշանակություն մի շարք հիվանդությունների բուժման համար: Սակայն գիտականորեն ապացուցված չէր թե արդյոք դա կապված է կաթի բաղադրությունից կամ նրա մեջ գտնվող մանրէների հատկություններից:

Մեր առջև խնդիր դրվեց ուսումնասիրել Արցախի Հանրապետության (ԱՀ) տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված և ընտրված էնդեմիկ կաթնաթթվային բակտերիաների պրոբիոտիկ հատկությունները և պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ հակամանրէային մետաբիոտիկների ազդեցությունը:

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ

ԳԼՈՒԽ 2. ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

2.1. Սննդամիջավայրեր

Աճեցման համար օգտագործվել է MRS (ISO) և MRS (Himedia) արգանակ, MRS ագար (Himedia), լակտոագար, սննդարար ագար (Nutrient, Himedia, Հնդկաստան), «Արցախ կաթ» ընկերությունում արտադրված շիճուկ և պաստերիզացված, մանրէազերծված, յուղալի (յուղի պարունակությունը՝ 3.6%, Արցախ կաթ), ինչպես նաև չոր յուղազրկված կաթ (յուղի պարունակությունը՝ 1.5%, Ուկրաինա): Կաթի մանրէազերծումը կատարվել է 0,8 մթն/Պա ճնշման տակ 15 րոպե տևողությամբ՝ մանրէազերծող սարքում:

Օգտագործվել է նաև կաթնաշոռի շիճուկի հիման վրա պատրաստված սննդարար միջավայրը հետևյալ բաղադրությամբ՝ խմորասնկային մզվածք-0.30%, պեպտոն-0.30%, եռտեղակայված նատրիումի կիտրոնաթթու-0.60%, մագնեզիումի սուլֆատ-0.20%, մանգանի սուլֆատ-0.02%, երկտեղակայված ամոնիումի սուլֆատ-0.50-0.80%, կալիումի ֆոսֆատ միատեղակայված-0.10% [6]:

2.2. Ուսումնասիրությունների առարկան

ԱՀ տարբեր շրջանների ընտանի կենդանիների (ավանակ, ոչխար, այծ, գոմեշ) կաթի տարբեր նմուշներից անջատվել են կաթնաթթվային բակտերիաներ: Օգտագործվել են նաև կովի պանրից և մածունից անջատված *Ent. faecium* M14, *Ent. durans* P13 շտամները [1]:

2.3. ԿԹԲ-ների մաքուր կուլտուրաների անջատում

2011-2017 թվականների ընթացքում մեր կողմից հավաքվել է ընդհանուր առմամբ 128 կաթի նմուշներ (ավանակ-10, այծ-40, ոչխար-68, գոմեշ-10): Նմուշները ստանալու համար կենդանիների կաթնագեղձերը մշակվել են սպիրտով, որից հետո կթման պրոցեսը կատարվել է ստերիլ ձեռնոցներով՝ օգտագործելով մանրէազերծված փորձասրվակներ (v=100մլ): Ամեն մի կենդանուց հավաքված կաթի քանակը կազմել է մոտավորապես 20-30 մլ: Փորձանոթների մեջ (5մլ), յուրաքանչյուր նմուշին (0.1 մլ) ավելացվել է հեղուկ MRS (HiMedia) սննդարար միջավայր, որոնք հետագայում տեղադրվել է ջերմապահարան 37°C, 48 ժամ: Այնուհետև աճած ԿԹԲ-ները ցանքսի միջոցով (առանձին գաղութներ ստանալու համար) աճեցվել են՝ MRS ագարի և լակտոագարի Պետրիի թասիկների վրա: Աճեցումը կատարվել է ջերմապահարանում 37°C, 24-48 ժամվա ընթացքում: Առանձին գաղութներից հաջորդաբար վերացանքսի միջոցով մեկուսացրել ենք ԿԹԲ-ների մաքուր կուլտուրաներ: Առանձնացվել են 98 գաղութներ, որոնցից յուրաքանչյուրը տեղափոխվել է կաթի և MRS արգանակի մեջ (5մլ) և աճեցվել ջերմապահարանում՝ 24 ժամ, 37°C պայմաններում: Այն մանրէները, որոնք չեն մերել կաթը՝ մեկուսացվել և պահվել են հետագա հետազոտությունների համար: Բոլոր ԿԹԲ-ները պահվում են 40% գլիցերինի պարունակությամբ մանրէազերծված կաթում՝ -20^0 C պայմաններում:

<u>2.4 Օգտագործված թեստ կուլտուրաներ և պայմանական ախտածին մանրէներ</u>

ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվությունը որոշելու նպատակով որպես թեստ կուլտուրա օգտագործվել են պայմանականորեն ախտածին Գրամ–դրական *Bacillus subtilis* 17-89 և Գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէները, որոնք գտնվում են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ ՊՈԱԿ-ի սննդի կենսաանվտանգության լաբորատորիայի կուլտուրաների հավաքածույում: Թեստ կուլտուրաները աճեցվել են սննդային ագարի՝ Nutrient միջավայրի վրա, 16 ժամ, 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Թեստ-կուլտուրաները նոսրացվել են ֆիզիոլոգիական լուծույթով մինչև մանրէների կենսազանգվածի խտությունը կազմի $1\text{-}2x10^6$ ԳԱՄ/մլ և օգտագործել հետագա հետազոտությունների համար:

Սկսած 2014 թվականից մեր կողմից ստացված հակամանրէային պատրաստուկները փորձարկվել են ԱՀ ԱՆ «Համաճարակաբանության և հիգենայի կենտրոն» ՊՈԱԿ-ում: Օգտագործվել են ախտածին՝ *E. coli, Citrobacter, Pseuodomonas aeruginose, Proteus vulgaris* մանրէներ, որոնք անջատվել են հիվանդ մարդկանցից ԱՀ ԱՆ «Համաճարակաբանության և հիգենայի կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի բժիշկ-մանրէաբանների կողմից:

2.5. ԿԹԲ-ների աճեցումը տարբեր միջավայրերում

Ուսումնասիրվող ԿԹԲ-ները աճեցվել են 16-20 ժամ, 37°C (ցանքսանյութ) և ավելցվել մանրէազերծված և պաստերիզացված, յուղալի և յուղազրկված կաթի, ինչպես նաև MRS արգանակի մեջ՝ միջավայրի 10%-ի չափով, 50մլ-ոց փորձանոթների մեջ, որոնք պարունակում են 30մլ միջավայր: Փորձանոթները տեղադրվել են ջերմապահարան 30°C, 37°C, 45°C տևողությունը ըստ դրված խնդրի: Կուլտուրալ հեղուկից մետաբիոտիկներ անջատման համար մանրէների աճեցումը կազմել է 48 ժամ, 37°C:

2.6. ԿԹԲ-ների ձևաբանական հատկությունների նկարագրություն

ԿԹԲ-ները բնութագրվել են բջիջների և գաղութների ձևաբանական առանձնահատկությունների ըստ ընդունված մեթոդի [11,12,10]: ԿԹԲ-ների նմուշները նկարագրվել են ըստ չափսի, գույնի, եզրերի, փայլի և այլ ձևաբանական հատկանիշների: Բջիջների ձևերը և չափսերը որոշվել են մեթիլեն կապույտով ներկված պատրաստուկների մանրադիտակային ուսումնասիրությամբ (Micromed, ЛОМО): Ներկումն ըստ Գրամի կատարվել են ըստ ընդունված մեթոդի [19]:

Տարբեր ջերմաստիճաններում մանրէների աճը ուսումնասիրելու նպատակով ԿԹԲ-ները աճեցվել են MRS արգանակում՝ ջերմապահարանում՝ 30°C, 37°C և 45°C, 24 ժամ տևողությամբ:

Գնահատվել են ԿԹԲ-ների կողմից կաթի մերման տևողությունը աճեցնելով յուղազրկված և 3.6% յուղալի կաթում 37°C ջերմապահարանում: Մերված կաթի թթվայնությունը որոշել ենք տիտրման ընդունված եղանակով [24]:

ԿԹԲ-ի աճը գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության ֆոտոկոլորիմետր սարքով КФ-2 (μ=590նմ ալիքի երկարություն, կյուվետ №3):

2.7. Հակամանրէային ակտիվության որոշում և հաշվարկ

ԿԹԲ-ների 16-20 ժամանոց ցանքսանյութերը ավելցվել են MRS արգանակի մեջ՝ միջավայրի 10%-ի չափով 50մլ-ոց փորձանոթների մեջ, որոնք պարունակում են 30մլ միջավայր: Փորձանոթները տեղադրվել են ջերմապահարան 37°C՝ 48 ժամ, որից հետո ստացված կուլտուրալ հեղուկներից (ԿՀ) կենսազանգվածը հեռացվել են կենտրոնախուսամամբ՝ 4000 պտ/ր, 30 րոպե տևողությամբ: Ստացված վերնստվածքային հեղուկների (այսուհետև՝ ՎՆՀ) pH-ի արժեքը հասցվել են 6.0, այնուհետև խտացվել 5 անգամ ջերմապահարանում՝ 55°C պայմաններում: Տևողությունը կախված է մշակվող ծավալից, որից հետո Պետրիի թասիկների վրա (թեսթ-կուլտուրաներով) կաթեցվել են յուրաքանչյուր նմուշից 20մկլ և տեղադրվել ջերմապահարան 37°C՝ 24 ժամ, որոշվել է հակամանրէային ակտիվությունը պայմանական ախտածին՝ *Bacillus subtilis* 17-89 և *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէների նկատմամբ:

Նմուշների հակամանրէային ակտիվությունը հաշվարկվել է հետևյալ բանաձևով [81]:

$$\text{ԱՄ/մլ} = \frac{1000 \times D \times d}{V},$$

որտեղ՝

ԱՄ/մլ – ակտիվ միավոր / մլ,

V - օգտագործված նմուշի ծավալը,

D - նոսրացման աստիճանը,

d - աճի ճնշման գոտու տրամաչափը:

2.8. ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրություն

2.8.1. ԿԹԲ-ների զգայունությունը լեղու նկատմամբ

ԿԹԲ-ների զգայունությունը 0.20-0.80% լեղու (Bile Salt REF M1003, Micromaster Thane 400 607, Mah, India) ազդեցության հանդեպ որոշվել է ըստ ընդունված մեթոդների [101,64]: ԿԹԲ-ների զգայունությունը գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության (μ=590նմ, КФ-2 ֆոտոկոլորիմետր սարքով) 24 ժամ աճելուց հետո:

2.8.2.ԿԹԲ-ների կենսունակությունը pH -ի տարբեր տիրույթներում

ԿԹԲ-ների կենսունակությունը MRS սննդարար միջավայրի pH=2.0-9.0 տիրույթներում գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության (μ=590նմ, ФК-2 ֆոտոկոլորիմետր) 24 ժամ աճելուց հետո ըստ ընդունված մեթոդների [104, 67]:

2.8. 3. <u>ԿԹԲ-ների կենսունակությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունից հետո</u>

ԿԹԲ-ների կենսունակությունը տրիպսին, պեպսին ֆերմենտների նկատմամբ գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության (μ=590նմ, ФК-2 ֆոտոկոլորիմետր) 24 ժամ աճելուց հետո ըստ ընդունված մեթոդի [54]: Աշխատանքում օգտագործվել է տրիպսին (Pure from bovine pancreas 3x, activity 2500 NFU/mg, HiMedia), պեպսին (Extra pure 1:3000U (HiMedia):

2.8. 4.<u>ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվության գնահատում</u>

Ընտրված ԿԹԲ-ի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը գնահատվել է ադրենալինի օքսիդացման ռեակցիայի և օպտիկական խտության փոփոխության (2800 WV/VIS սպեկտրոֆոտոմետրով) 347 նմ ալիքի երկարության տակ 3 րոպե: Հակաօքսիդանտային ակտիվությունը որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$AA=(D_1-D_2)x100/ D_1$$

D_1-սկզբնական օպտիկական խտություն, D_2-օպտիկական խտությունը ադրենալինի ավելացումից հետո: AA թվի մեծությունը 10 %-ից բարձր լինելու դեպքում ցույց է տալիս մանրէների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը [23]:

2.8.5.<u>ԿԹԲ-ների հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունության որոշում</u>

Հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունությունը որոշվել է ըստ ընդունված մեթոդի[10]: Աճեցված ԿԹԲ-ների կուլտուրաները ցանել ենք MRS ագարի վրա, որի մակերեսին տեղադրել ենք համապատասխան հակաբիոտիկներով սկավառակները (Liofilchem s.r.l. Roseto, Italy): Յուրաքանչյուր Պետրիի թասիկի մակերեսին տեղադրվել են 6-8 հակաբիոտիկների սկավառակներ և աճեցրվել 37°C, 24 ժամ տևողությամբ: Աճեցումից հետո գնահատվել են աճի ճնշման գոտու տրամաչափը (Ø, մմ) ըստ ընդունված մեթոդի: Կայունության որոշման արդյունքները բերված են աղյուսակներում ըստ NCCLS global consensus standard,V22:

2.8.6.<u>ԿԹԲ-ների ադհեզիվ հատկության որոշում</u>

Ադհեզիվ հատկության հետազոտման նպատակով ԿԹԲ-ները աճեցրվել են MRS արգանակում 24ժ, այնուհետև տեղափոխվել էպենդորֆի փորձանոթների մեջ, ավելացվել հավասար քանակությամբ էպիթելային բջիջներ (0.9% ֆիզիոլոգիական լուծույթի մեջ բերանի խոռոչից ստերիլ վերցրած էպիթելային բջիջները, որոնք նախօրոք աճեցվել են 2ժ, 37°C) և տեղադրվել ջերմապահարան՝ 3-4ժ 37°C: Դրանից հետո կատարվել է կենտրոնախուսում՝ 4000 պտույտ 5 րոպե: Մանրէների ադհեզիվ հատկությունը ստուգելու համար պատրաստվել են մանրադիտակային պրեպարատներ (ֆիքսվել են Մեթիլեն կապույտ ներկով): Մանրադիտակի տակ մեկ տեսողական դաշտում էպիթելային բջջի վրա սոսնձված 50-ից ավելի հետազոտվող մանրէի բջիջները վկայում են ադհեզիվ հատկության մասին:

2.9. ԿԹԲ-ների աճեցումը և կուլտուրալ հեղուկի մաքրումը

2.9.1.Ցանքսանյութի ստացում

ԿԹԲ-ները աճեցրվել են փորձանոթներում MRS հեղուկ (100մլ) միջավայրում և տեղադրվել ջերմապահարան 16 ժամ, 37°C: Ստացված ցանքսանյութը օգտագործվել է կուլտուրալ հեղուկից մետաբիոտիկների անջատման համար:

2.9.2.Կուլտուրալ հեղուկի ստացում

ԿԹԲ-ների 16 ժամանոց ցանքսանյութը 10%-ի չափով ավելացվել է 200մլ ծավալով 100մլ MRS արգանակ պարունակող փորձանոթների մեջ: Աճեցումը կատարվել է ջերմապահարանում 37°C, 24 ժամ: Կուլտուրալ հեղուկը մաքրելու համար (մետաբիոտիկների ստացման համար) աճեցման տևողությունը կազմում է 48 ժամ: Ստացված կուլտուրալ հեղուկներից (ԿՀ) կենսազանգվածը հեռացվել է կենտրոնախուսմամբ՝ 4000 պտ/ր, 30 րոպե տևողությամբ: Վերնստվածքային հեղուկները (այսուհետև՝ ՎՆՀ) խտացվել է 5 անգամ ջերմապահարանում՝ 55°C-ի պայմաններում: Խտացման տևողությունը կախված է մշակվող կուլտուրալ հեղուկի ծավալից և օգտագործվող մանրէների տեսակից:

2.9.3. Վերնստվածքային հեղուկի խտանյութերի ստացում և մաքրում

Ստացված վերնստվածքային հեղուկի (ՎՆՀ) խտանյութը 96% սպիրտով ենթակվել է սպիրտային մշակման (խտանյութ/սպիրտ, 1/1): ՎՆՀ 24 ժամ +4°C պայմաններում սառնարանում պահելուց հետո առաջացված նստվածքը (բարձր մոլեկուլային կշռով նյութեր) հեռացվել է կենտրոնախուսմամբ 4000 պտ/ր, 30 րոպե տևողությամբ: ՎՆՀ-ի սպիրտային լուծույթը խտացնելով 55°C պայմաններում մինչև սպիրտի գոլորշիացում, բերվել է նախնական ծավալի:

Վերնստվածքային խտանյութերի մաքրման համար կիրառվել է ժել-ֆիլտրման եղանակը [19]: Խտանյութերը (5մլ) անցկացվել են Sephadex G25 (Superfine) խեժով լցված աշտարակով (1.5×57սմ, խեժի ծավալը՝ 100մլ): Աշտարակի լվացումը կատարվել է մանրէազերծված թորած ջրով: Յուրաքանչյուր ՎՆՀ-ի ժել-ֆիլտրման մաքրման ժամանակ հավաքվել են 4-ական մլ ծավալով մոտավորապես 40-50 մասնաբաժիններ՝ ստուգել յուրաքանչյուր մասնաբաժնի սպիտակուցի խտությունը (230-320 նմ, մգ/մլ, 2800 WV/VIS սպեկտրոֆոտոմետրով): Սպիտակուցի խտության որոշումը հաշվարկվել է հետևյալ բանաձևով՝

$$(A_2\text{-}A_{rf}) \text{ x } F_3\text{-}(A_1\text{-}A_{rf})\text{x}F_4$$

որտեղ A_1- 260նմ, A_2-230նմ, A_{rf}- 320նմ, F_3-183(const), F_4-75.8

Այնուհետև յուրաքանչյուր մասնաբաժին (40-50) խտացնելով ջերմապահարանում՝ 55°C պայմաններում՝ 2 ժամ որոշվել է մասնաբաժնի (0,5 մլ) հակամանրէային ակտիվությունը պայմանական ախտածին՝ *Bacillus subtilis* 17-89 և *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէների նկատմամբ: Բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված մասնաբաժինները միացվել են: Արդյունքում ստացված մասնակի մաքրված սպիտակուցաբնույթի հակամանրէային պատրաստուկը (ՀՄՊ) օգտագործվել է հետագա հետազոտություններում, որպես մետաբիոտիկ:

<u>2.10. ԿԹԲ-ների նույնականացում</u>

ԿԹԲ-ների նույնականացումն իրականացվել է 16 s ՌՆԹ սեկվենավորման մեթոդի կիրառմամբ: Նուկլեինաթթվային հաջորդականությունն որոշվել է Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերությունում: Ստացված հաջորդականություններն համեմատվել են BLAST sequencing (ԱՄՆ) տվյալերի բազայում գրանցված էտալոնային շտամների (ԱՄՆ) հաջորդականությունների հետ:

2.11. ԿԹԲ-ների շտամների համակցությունների ստեղծում և իրենց օրգանոլեպտիկ հատկությունների որոշում

Կաթի մեջ լաբորատոր մանրէազերծված փորձանոթներում աճեցվել են առանձին ԿԹԲ-ներ, որից հետո համապատասխան հարաբերությամբ ցանվել են յուղալի կաթը և տեղադրվել ջերմապահարան 37°C, 5-6ժ, որից հետո որոշվել է ստացված համակցության օրգանոլեպտիկ հատկությունները:

Օրգանոլեպտիկ գնահատականը տրվել է համաձայն ԳՕՍՏ 4959 (ՀՀ), 30 աստիճանային սանդղակի, որտեղ յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ ունի՝ որակի 4 աստիճան՝ գերազանց-3, լավ-2, բավարար-1, անբավարար-0: Համեմատական նշանակության գործակիցը ունի հետևյալ սանդղակը՝ արտաքին տեսքը-1, գույնը-1, հոտը-2, հյուսվածք-3, համը-3: Քանակական համակարգում գնահատականը տալու համար յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ բազմապատկվում է գործակցի նշանակության աստիճանային ցուցանիշով: Ըստ ԳՕՍՏ 4959 (ՀՀ) աստիճանային սանդղակով 27-ից բարձր ստացված ցուցանիշը համարվում է դրական արտադրությունում օգտագործելու համար:

2.12. Ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծություն

Օգտագործվել է համակարգչային Microsoft Word 10 և Microsoft Office Excel 2010 ծրագիրը, տարբերությունները հավաստի են համարվել $p < 0.05$-ի դեպքում:

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍԻ ՍԽԵՄԱ

Արցախի տարբեր շրջանների այլ ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթի նմուշների հավաքագրում

↓

ԿԹԲ-ների անջատում, մաքուր կուլտուրաների ստացում

↓

ԿԹԲ-ների ձևաբանական հատկությունների նկարագրություն

↓

Անջատված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրություն

↓

Ընտրված մանրէների աճեցում և կուլտուրալ հեղուկների խտանյութերի ստացում

↓

Կուլտուրալ հեղուկների խտանյութերի մաքրում՝ ժել-ֆիլտրման մեթոդով

↓

Հակամանրէային մասնաբաժինների (մետաբիոտիկների) ստացում և համեմատական գնահատում

↓

Ստացված մետաբիոտիկների ազդեցությունը ախտածին և սնունդ փչացնող մանրէների աճի վրա

↓

Ընտրված մանրէների օրգանոլեպտիկ հատկությունների ուսումնասիրություն

↓

Ընտրված ԿԹԲ-ների կիրառումը արտադրության մեջ

↓

Փորձաարտադրական արդյունքների ստացում և քննարկում

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄՆԵՐ

ԳԼՈՒԽ 3. ՏԱՐԲԵՐ ԸՆՏԱՆԻ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ (ԱՅԾ, ՈՉԽԱՐ, ԳՈՄԵՇ, ԱՎԱՆԱԿ) ԿԱԹԻՑ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

3.1. ԿԹԲ-ների ձևաբանական բնութագիրը

Կաթնամթերքների միկրոֆլորայի հետազոտման նպատակով՝ մեր կողմից ՀՀ տարբեր շրջանների տնային տնտեսությունների տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից հավաքվել են 128 նմուշներ, որից ըստ կաթի մերման արագությամբ ընտրվել են 98 ԿԹԲ-ներ:

MRS ագարի և լակտոագարի վրա աճեցրած (2.6. նյութեր և մեթոդներ) ԿԹԲ-ների գաղութները տարբերվում են իրենց գույնով, ձևով և չափսով: Մեկուսացված ԿԹԲ-ների բջիջների մանրադիտակային ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ԿԹԲ-ները ներկայացված են տարբեր չափսերի գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջներով:

Աղյուսակ 2.

Այծի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ձևաբանական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	Նկարագրություն	
		Բջիջներ	Գաղութներ
1.	***LAB* sp. KA1**	կոկեր	սպիտակավուն, մանր, հարթ
2.	***LAB* sp. KA2**	դիպլոկոկեր	սպիտակավուն, միջին,տափակ
3.	***LAB* sp. KA3**	կոկեր	սպիտակավուն,մանր, հարթ
4.	***LAB* sp. KA4**	կոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, կլորավուն
5.	***LAB* sp. KA5**	երկար կոկեր	մանր, դեղնավուն, կլոր
6.	***LAB* sp. KA6**	կոկեր	սպիտակավուն, տափակ
7.	***LAB* sp. KA7**	կոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, կլոր
8.	***LAB* sp. KA8**	կոկեր	մանր գաղութներ

Աղյուսակ 2-ի շարունակություն

N	ԿԹԲ	Բջիջներ	Գաղութներ
9.	*LAB* sp. KA9	կոկեր	մանր գաղութներ
10.	*LAB* sp. KA10	կոկեր	մանր գաղութներ
11.	*LAB* sp. KA12	կոկեր	մանր գաղութներ
12.	*LAB* sp. KA13	փոքր կոկեր	մանր գաղութներ
13.	*LAB* sp. KA14	փոքր կոկեր	մանր գաղութներ
14.	*LAB* sp. KA15	փոքր կոկեր	մանր գաղութներ
15.	*LAB* sp. KA19	կոկեր	մանր գաղութներ
16.	*LAB* sp. KA23	կոկեր	մանր գաղութներ
17.	*LAB* sp. KA24	փոքր կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
18.	*LAB* sp. KA25	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
19.	*LAB* sp. KA27	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
20.	*LAB* sp. KA28	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
21.	*LAB* sp. KA29	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
22.	*LAB* sp. KA30	ցուպիկներ	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
23.	*LAB* sp. KA31	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
24	*LAB* sp. KA32-1	կոկեր	սպիտակավուն, գաղութներ
25.	*LAB* sp. KA32-2	կոկեր	մանր գաղութներ
26.	*LAB* sp. KA33	կոկեր	սպիտակավուն, մանր գաղութներ
27.	*LAB* sp. KA34	կոկեր	սպիտակավուն, գաղութներ
28.	*LAB* sp. KAP 1	կոկեր	մանր, դեղնավուն, կլորավուն
29.	*LAB* sp. KAP 2	կոկեր	կաթնագույն, տափակ

Աղյուսակ 3.

Ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ձևաբանական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	Նկարագրություն	
		Բջիջներ	Գաղութներ
1.	*LAB* sp.KV1	կոկեր	խոշոր, սպիտակ, ուռուցիկ
2.	*LAB* sp.KV2	կոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, հարթ
3.	*LAB* sp.KV3	կոկեր	սպիտակ, մանր, հարթ
4.	*LAB* sp.KV4$_1$	ստրեպտոկոկեր	սպիտակ, խոշոր,ուռուցիկ
5.	*LAB* sp. KV4$_2$	ցուպիկներ	սպիտակ, խոշոր, հարթ
6.	*LAB* sp. KV5	կոկեր	խոշոր, կաթնագույն, հարթ,
7.	*LAB* sp. KV6	կարճ ցուպիկներ	սպիտակ, ուռուցիկ,հարթ եզրերով
8.	*LAB* sp. KV7	կոկեր	մանր, դեղնավուն, ուռուցիկ

Աղյուսակ 3-ի շարունակություն

N	ԿԹԲ	Բջիջներ	Գաղութներ
9.	***LAB* sp. KV8**	բարակ ցուպիկներ	մանր, փղոսկրի գույնի, ուռուցիկ
10.	***LAB* sp. KV9**	ստրեպտոկոկեր	խոշոր, սպիտակ, կլորավուն
11.	***LAB* sp. KV10**	ցուպիկներ	մանր, դեղնավուն, ուռուցիկ, թափանցիկ
12.	***LAB* sp. KV11-1**	ստրեպտոկոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, ուռուցիկ
13.	***LAB* sp. KV11-2**	կարճ կոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, հարթ
14.	***LAB* sp. KV12**	երկար կոկեր	մանր, դեղնավուն, ուռուցիկ
15.	***LAB* sp. KV13**	ստրեպտոկոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, ուռուցիկ
16.	***LAB* sp. KV14**	երկար կոկեր	դեղնավուն, թափանցիկ, ուռուցիկ
17.	***LAB* sp. KV15-1**	ագրեգացված կոկեր	դեղնավուն, հարթ
18.	***LAB* sp. KV16**	երկար կոկեր	մանր, սպիտակ, ուռուցիկ
19.	***LAB* sp. KV17**	կոկեր	մանր, ուռուցիկ, սպիտակավուն
20.	***LAB* sp. KV18**	ստրեպտոկոկեր	մանր,ուռուցիկ, կաթնագույն
21.	***LAB* sp. KV19**	ստրեպտոկոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, թափանցիկ
22.	***LAB* sp. KV20**	կոկեր	միջին, սպիտակավուն, ուռուցիկ
23.	***LAB* sp. KVP1**	դիպլոկոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
24.	***LAB* sp. KVP2**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
25.	***LAB* sp. KV21**	դիպլոկոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
26.	***LAB* sp. KV22**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
27.	***LAB* sp. KV23**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
28.	***LAB* sp. KV24**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
29.	***LAB* sp. KV25**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
30.	***LAB* sp. KV26**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
31.	***LAB* sp. KV27**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
32.	***LAB* sp. KV28**	կոկեր	սպիտակ գաղութներ
33.	***LAB* sp. KV29**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
34.	***LAB* sp. KV31**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
35.	***LAB* sp. KV32**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
36.	***LAB* sp. KV33**	կոկեր	մանր, կաթնագույն գաղութներ
37.	***LAB* sp. KV34**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
38.	***LAB* sp. KV35**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
39.	***LAB* sp. KV36**	կոկեր	մանր, սպիտակ գաղութներ
40.	***LAB* sp. KV37**	կոկեր	մանր գաղութներ
41.	***LAB* sp. KV38**	կոկեր	մանր գաղութներ
42.	***LAB* sp. KV57**	կոկեր	խոշոր, ուռուցիկ գաղութներ
43.	***LAB* sp. KV60**	կոկեր	մանր գաղութներ
44.	***LAB* sp. KV65**	կոկեր	մանր գաղութներ
45.	***LAB* sp. KV66**	կոկեր	խոշոր, սպիտակ, ուռուցիկ
46.	***LAB* sp. KV67**	կոկեր	մանր, փղոսկրի գույնի, հարթ

Աղյուսակ 4.

Ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ձևաբանական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	Նկարագրություն	
		Բջիջներ	Գաղութներ
1.	*LAB* sp.KE1	կոկեր	խոշոր, սպիտակավուն գաղութներ
2.	*LAB* sp.KE2	կոկեր	մանր գաղութներ
3.	*LAB* sp.KE3	կոկեր	դեղնավուն, մանր գաղութներ
4.	*LAB* sp.KE4	կոկեր	կլոր, մեծ գաղութներ
5.	*LAB* sp.KE5	կոկեր	խոշոր, սպիտակավուն գաղութներ
6.	*LAB* sp.KE6	կոկեր	սպիտակավուն գաղութներ
7.	*LAB* sp.KE7	կոկեր	մանր գաղութներ
8.	*LAB* sp.KE8	կոկեր	մանր, սպիտակավուն գաղութներ
9.	*LAB* sp.KE9	կոկեր	կլոր, մեծ գաղութներ
10.	*LAB* sp.KE10	կոկեր	դեղնավուն, մանր գաղութներ

Աղյուսակ 5.

Գոմեշի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների գաղութների ձևաբանական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	Նկարագրություն	
		Բջիջներ	Գաղութներ
1.	*LAB* sp.KG1	կոկեր	սպիտակավուն, մանր,հարթ
2.	*LAB* sp. KG2	կոկեր	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ
3.	*LAB* sp. KG3	դիպլոկոկեր	փոքր, թափանցիկ, դեղնավուն
4.	*LAB* sp. KG4	դիպլոկոկեր	խոշոր, սպիտակավուն, տափակ
5.	*LAB* sp. KG5	երկար ցուպիկներ	մանր, փղոսկրի գույնի, կլոր
6.	*LAB* sp. KG5-1	կոկեր	մանր գաղութներ
7.	*LAB* sp. KG6	կոկեր	մանր, սպիտակ, ուռուցիկ
8.	*LAB* sp. KG7	կոկեր	սպիտակ, ուռուցիկ
9.	*LAB* sp. KG8-1	կոկեր	սպիտակավուն, հարթ
10.	*LAB* sp. KG8-2	կոկեր	սպիտակավուն, ուռուցիկ
11.	*LAB* sp. KG9-1	կոկեր	սպիտակավուն, հարթ, ընկղմված
12.	*LAB* sp. KG9-2	կոկեր	մանր սպիտակավուն, հարթ
13.	*LAB* sp. KG10	ստրեպտոկոկեր	մանր կաթնագույն, հարթ

ԿԹԲ-ների բջիջների համեմատական ձևաբանական բնութագրությունը ամփոփված է աղյուսակ 6-ում:

Աղյուսակ 6.

Անջատված ԿԹԲ-ների համեմատական ձևաբանական բնութագիրը (MRS ագար, 24 ժամ)

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	N		Բջիջների ձև	
		Նմուշ	ԿԹԲ	Գնդաձև	Ցուպիկաձև
1.	ավանակ	13	10	9	1
2.	այծ	35	29	27	2
3.	ոչխար	67	46	42	4
4.	գոմեշ	13	13	11	2
Ընդհանուր		128	98	89	9

Ինչպես երևում է աղյուսակ 6-ի ստացված տվյալներից՝ ԱՀ այլ ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթից անջատված մանրէների՝ գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջների հարաբերությունը կազմում է մոտավորապես 9:1: Մեր կողմից ստացված տվյալները հակասում են գրականության մեջ կովի կաթից անջատված մանրէների բերված տվյալներին, որտեղ ցույց է տրված, որ տաք բնակլիմայական պայմաններում (Հայաստան, Իրան,) գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջների հարաբերությունը կազմում է 3:1 [40, 19, 64]: Նկատվող տարբերությունը կարելի է բացատրել տվյալ տարածաշրջանի կաթնաթթվային բակտերիաների կենսաբազմազանությամբ: Մի շարք գիտնականներ ցույց են տվել, որ Արցախի կաթնաթթվային մանրէների կենսաբազմազանությունը ցեղային և տեսակային պատկանելիությամբ էապես տարբերվում է Հայաստանի, Վրաստանի կենսաբազմազանությունից [48]: Մեր կողմից ստացված տվյալները վկայում են նաև մանրէների ձևաբանական հարաբերության տարբերությամբ: Սակայն բացակայում են հետազոտություններ Արցախի տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէների բջիջների համեմատական ձևաբանական բնութագրերի: Ելնելով վերը նշվածից մեր կողմից ստացված տվյալները ավելի հետաքրքիր են դառնում:

Քանի որ կաթնամթերքի արտադրության մեջ օգտագործվում են երկու տեսակի կաթ, տարբեր ընտանի կենդանինների կաթի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները աճեցրվել է յուղալի (3.6%) և յուղազրկված կաթի մեջ, որից հետո որոշվել է մերման ժամանակը և թթվայնությունը: Տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 7-ում:

Աղյուսակ 7-ի տվյալներից երևում է, որ կովի կաթի մերման ժամանակը տարբեր մանրէներով տարբերվում է: Այծի (29-19 ԿԹԲ) և ավանակի (10-10 ԿԹԲ) կաթից անջատված մանրէները կաթը մերում են 10-24 ժամ: Ոչխարի(46-25 ԿԹԲ) և գոմեշի (13-8 ԿԹԲ) կաթից անջատված մանրէները ավելի արագ են մերում կաթը՝ 5-10 ժամում: Կարելի է ենթադրել, որ այդ տարբերությունները կախված չեն կաթի տեսակից, քանի որ մերումը կատարվել է կովի կաթի մեջ, այլ կախված է մանրէների տեսակից: Ցույց է տրված, որ ԱՀ-ի կովի կաթից անջատված տարբեր ցեղերին պատկանող մանրէները մերում են կաթը տարբեր ժամանակում կախված կաթի տեսակից [1]: Այս ցուցանիշով այլ ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները տարբերվում են կովի կաթից անջատված մանրէներից: Կարելի է ենթադրել, որ օգտագործելով իրենց սկզբնական անջատման կաթի աղբյուրը կարող է լինել մերման ժամանակի այլ ցուցանիշներ:

Աղյուսակ 7.

Կովի կաթի մերման ժամանակի գնահատումը

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակը	Կաթ			
			Յուղալի (3.6%)		Յուղազրկված(1.5%)	
			ժամ			
			5.0- 10.0	10.0-24.0	5.0-10.0	10.0-24.0
1	ավանակ	10	0	10	0	10
2	այծ	29	10	19	8	21
3	ոչխար	46	25	21	25	21
4	գոմեշ	13	8	5	8	5
5.	կով	54	20	24	20	24

Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները ըստ աճեցման ջերմաստիճանի դասակարգվում են պսիխրոֆիլների, մեզոֆիլների և թերմոֆիլների [25, 20, 21]: Մեր կողմից մեկուսացված մանրէները աճեցվել են տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում՝ 28°C, 37°C, 45°C 10-24 ժամ: Ստացված տվյալները բերված են աղյուսակ 8-ում: Տվյալներից երևում է ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէների աճի տոկոսային հարաբերությունը տարբեր է՝ կախված աճեցման ջերմաստիճանից: Ներկայացված մանրէների մեծ մասը մեզոֆիլներ են՝ լավ են աճում 37°C: Գոմեշի կաթից անջատված մանրէները լավ են աճում ջերմաստիճանի լայն տիրույթում 28-45°C, այն դեպքում երբ ավանակի կաթից անջատված մանրէները չեն աճում 28°C ջերմաստիճանում:

Ըստ նախկինում ստացված տվյալների Արցախի տարբեր շրջանների կովի կաթից անջատված մանրէները մեծ մասամբ ներկայացված են մեզոֆիլ և թերմոֆիլ ձևերով [1]: Համեմատելով ստացված տվյալները՝ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները ևս ներկայացված են մեզոֆիլ և թերմոֆիլ ձևերով:

Մի շարք հեղինակների կողմից ցույց է տրված, որ ցուրտ բնակլիմայական շրջաններում ավանդական կաթնամթերքները հիմնականում պարունակում են մեզոֆիլ *(Leuconostoc spp.)* բակտերիաներ: Թերմոֆիլ բակտերիաները, որոնք հիմնականում ներառում են *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերի ներկայացուցիչներ գերակշռում են տաք, կիսաարևադարձային կամ արևադարձային կլիմայով շրջաններում [49, 35]:

Աղյուսակ 8.

ԿԹԲ-ների աճը տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	Աճ, °C		
			28	37	45
1.	ավանակ	10	0	5	5
2.	այծ	29	5	11	13
3.	ոչխար	46	13	14	19
4.	գոմեշ	13	3	5	5
5.	կով	54	17	20	17

Մեր կողմից ստացված տվյալները չեն հակասում, որ մանրէների կենսաբազմազանությունը կախված է տվյալ տարածաշրջանի բնակլիմայական պայմաններով և ԱՀ ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները ներկայացված են մեծ մասամբ գնդաձև բջիջներով (coccus) և դիմացկուն են բարձր ջերմաստիճանի նկատմամբ:

3.2. Անջատված ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրություն

Որպեսզի ընտրվեն պրոբիոտիկ հատկություններով մանրէներ, հետազոտվել են 98 ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունները՝ կայունությունը լեղու ֆիզիոլոգիական խտությունների, մարսողական ֆերմենտների ազդեցության, pH տարբեր տիրույթների նկատմամբ, հակամանրէային հակաօքսիդանտային ակտիվությունը, ադհեզիվ հատկությունը ըստ ընդունված մեթոդների (2.8 նյութեր և մեթոդներ), և ստացված տվյալները ներկայացրվել են միջին համեմատական ցուցանիշներով:

3.2.1. ԿԹԲ-ների կայունությունը լեղու տարբեր խտանյութերի նկատմամբ

Լեղու նկատմամբ կայունությունը հանդիսանում է պրոբիոտիկների կարևորագույն հատկություններից մեկը: Լեղաթթուն սինթեզվում է լյարդում և արտազատվում բարակ աղիների 12-մատնյա հատված՝ համակցված ձևով 500-700 մլ/օր խտությամբ [42]: Լեղին պարունակում է լեղաթթուների աղեր, որոնք էմուլգացնում են ճարպերը, հիդրոլիզի ենթարկում ճարպաթթուները և ջրում լուծված միացությունները: Ցույց է տրված պրոբիոտիկ մանրէների արդյունավետությունը կախված լեղու նկատմամբ ցուցաբերած կայունությամբ [18]: Մի շարք աշխատանքներում նկարագրված են պրոբիոտիկ մանրէների հակամանրէային ակտիվության ընդունակություն 0.2-0.8% խտությամբ լեղով մշակելուց հետո [66]: Ցույց է տրված, որ կաթնաթթվային բակտերիաների և բիֆիդոբակտերիաների մեծ մասը ընդունակ են աճելու և ակտիվություն ցուցաբերելու մարդու օրգանիզմում՝ լեղու խտության ֆիզոլոգիական թույլատրելի սահմաններում [52]:

Աղեստամոքսային համակարգում լեղու քանակը կազմում է մոտավորապես 0.3% [13]: Ելնելով դրանից ստուգվել են մեր կողմից անջատված մանրէների կայունությունը լեղու 0.2-0.8% լայն տիրույթում (2.8.1.նյութեր և մեթոդներ): Ստացված արդյունքները բերված են աղյուսակ 9-ում:

Աղյուսակ 9.

ԿԹԲ-ների կայունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ (MRS, 37°C)

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	Լեղի, %	
			0.2-0.5	0.5-0.8
1.	ավանակ	10	30±10	40±13
2.	այծ	29	41±12	24±10
3.	ոչխար	46	28±12	20±14
4.	գոմեշ	13	38±13	23±13
5.	կով	50	28±10	20±12

Ինչպես երևում է աղյուսակի տվյալներից լեղու 0.2-0.5% և 0.2-0.8% լայն տիրույթի խտությունների ազդեցությունը ուսումնասիրվող կաթնաթթվային բակտերիաների մոտ տարբերվում է: Լեղու ավելի բարձր խտության՝ 0.5-0.8%, հանդեպ դիմացկուն են ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները (40%) ի տարբերություն գոմեշի և այծի կաթից անջատված մանրէների, որոնք ավելի դիմացկուն են լեղու ցածր՝ 0.2-0.5% խտության նկատմամբ: Ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները նույն կենսունակությունը ունեն ինչ կովի կաթից անջատված մանրէները: Այսպիսով, ուսումնասիրվող մանրէները տարբերվում են իրենց կայունությամբ լեղու տարբեր տիրույթների նկատմամբ:

3.2.2. ԿԹԲ-ների կայունությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում

Անցնելով աղեստամոքսային ուղու միջոցով՝ պրոբիոտիկ մանրէները և նրանց նյութափոխանակության արգասիքները ենթարկվում են միջավայրի թթվայնության փոփոխությանը, քանի որ աղիների տարբեր բաժիններ տարբերվում են pH տարբեր տիրույթներով: Օրինակ, ստամոքսի pH-ը կայուն չէ և կախված է մարդու հագեցածության աստիճանից (սոված ժամանակ pH-ը կարող է նվազել մինչև 1.5) [54]: Պրոբիոնտ բակտերիաների կարևոր հատկություն է համարվում կայունությունը pH-ի լայն տիրույթի նկատմամբ, քանի որ pH-ի միջավայրի նվազեցումը հանգեցնում է մի շարք մանրէների ոչնչացման [28]: Ըստ գրականության տվյալների ԿԹԲ-ները կարող են ցուցաբերել հակամանրէային ակտիվություն pH=2-9 լայն տիրույթում, սակայն մանրէների մեծ մասը մաքսիմալ ակտիվություն ցուցաբերում են pH=5-7 տիրույթներում [27, 36]: Կարելի է ենթադրել, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէների կայունությունը կախված pH-ից, կարող են ունենալ տարբեր արժեքներ: Այդ նպատակով ստուգվել է անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում:

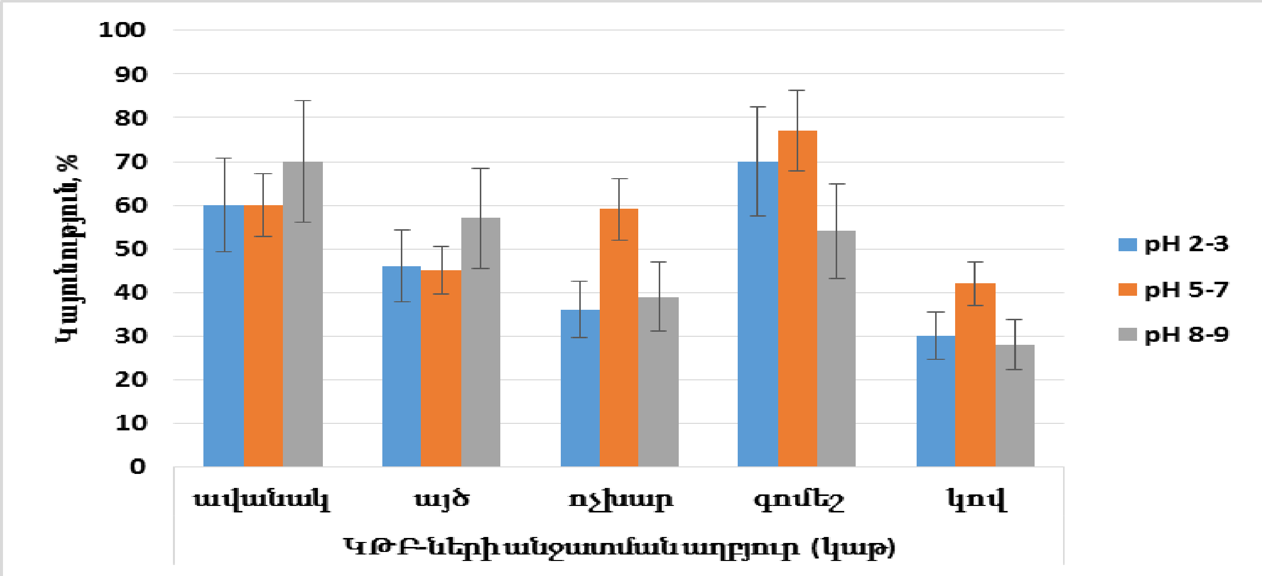
ԿԹԲ-ների կայունությունը կախված միջավայրի pH-ից ներկայացված է աղյուսակ 10-ում և նկար 1-ում:

Աղյուսակ 10.

ԿԹԲ-ների կայունությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում
(MRS, 37°C)

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	pH, %		
			2-3	5-7	8-9
1.	**ավանակ**	10	60±10	60±8	70±12
2.	**այծ**	29	46±8	45±5	57±9
3.	**ոչխար**	46	36±6	59±9	39±8
4.	**գոմեշ**	13	70±11	77±9	54±7
5.	**կով**	36	40±5	55±6	25±5

Ինչպես երևում է աղյուսակի տվյալներից՝ **ավանակի և այծի** կաթից անջատված ԿԹԲ-ները կայուն են pH-ի 2-9 լայն տիրույթում, իսկ **գոմեշի և ոչխարի** կաթից անջատված ԿԹԲ-ները՝ թթվային և չեզոք միջակայքում: Ստացված տվյալները ներկայացված են նկար 1-ում:



Նկար 1. ԿԹԲ-ների կայունությունը pH-ի լայն տիրույթում

Կարելի է ենթադրել, որ **ավանակի և այծի** կաթից անջատված ԿԹԲ-ները կարող են որպես պրոբիոտիկ գործել ուղիղ աղիներում, որտեղ pH-ի տիրույթը կազմում են pH=8-9: Իսկ կովի կաթից անջատված մանրէները ցուցաբերում են ցածր դիմացկունություն pH=8-9 տիրույթում:

3.2.3.ԿԹԲ-ների կայունությունը տարբեր պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ

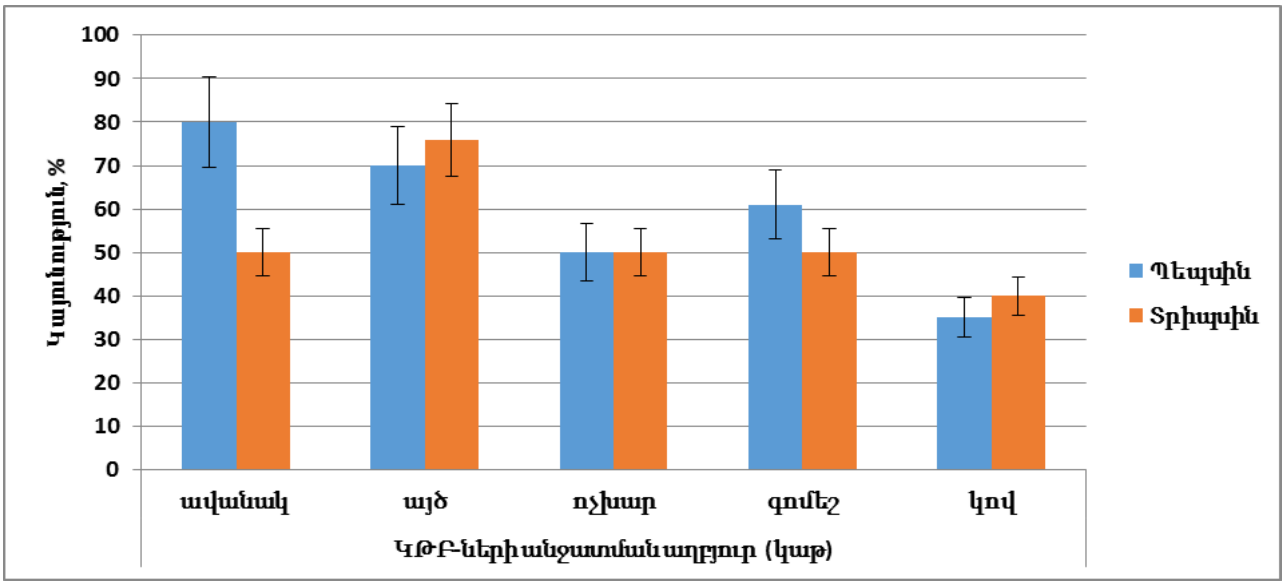
Սնունդը անցնելով աղեստամոքսային ուղու տարբեր հատվածներով, ենթարկվում է մեխանիկական, քիմիական և մարսողական ֆերմենտների՝ պեպսինի և տրիպսինի ազդեցությանը [89, 97]: Պրոբիոտիկ մանրէները, ինչպես նաև նրանց նյութափոխանակության արգասիքները՝ անցնելով աղեստամոքսային ուղու տարբեր հատվածներով ենթարկվում են մարսողական տարբեր ֆերմենտների ազդեցությանը: Պրոբիոտիկ մանրէները պետք է կայուն լինեն գործող պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ: Այդ նպատակով հետազոտել ենք անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը պեպսինի և տրիպսինի նկատմամբ (2.8.3. նյութեր և մեթոդներ): Ստացված արդյունքները ամփոփված են աղյուսակ 11-ում և նկար 2-ում:

Աղյուսակ 11.

ԿԹԲ-ների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ
(MRS, 37°C)

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտ	
			Պեպսին	Տրիպսին
			%	
1.	ավանակ	10	80±10	50±5
2.	այծ	29	70±9	76±8
3.	ոչխար	46	50±7	50±9
4.	գոմեշ	13	61±9	50±7
5.	կով	50	35±5	40±6

Հետազոտվող բոլոր մանրէները տարբեր կայունություն էին ցուցաբերում պեպսինի և տրիպսինի նկատմամբ, մեծ մասամբ (ոչխար, այծ, գոմեշ): Ինչպես երևում է բերված տվյալներից ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների 50% ցուցաբերում են կայունություն տրիպսին ֆերմենտի նկատմամբ, իսկ 80%-ը՝ պեպսին ֆերմենտի նկատմամբ:



Նկար 2. ԿԹԲ-ների կայունությունը ֆերմենտների ազդեցության նկատմամբ

Համեմատելով տվյալները՝ երևում է, որ պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ ամենից ցածր կայունություն ունեն կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները համապատասխանաբար՝ պեպսին-34% և տրիպսին-40%:

Այսպիսով, ստացված հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները տարբերվում են կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ներից պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ կայունությամբ, որը կարելի է բացատրել ուսումնասիրվող մանրէների բջիջների կենսաքիմիական առանձնահատկություններով:

3.2.4. ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը

Ածխաջրածինների, սպիրտների, թթուների, ճարպերի և այլ նյութերի ազատ թթվածնով օքսիդացումը իրենից ներկայացնում է շղթայական գործընթաց: Շղթայական ռեակցիաների վերափոխումներն իրականացվում են ակտիվ ազատ ռադիկալների մասնակցությամբ: Հակաօքսիդանտների ազդման մեխանիզմի էությունը կայանում է նրանում, որ հակաօքսիդանտ մոլեկուլները փոխազդելով ակտիվ ռադիկալների հետ ձևավորում են քիչ ակտիվ ռադիկալներ: Հակաօքսիդանտները դանդաղեցնում են նաև սննդամթերքի օքսիդացման պրոցեսների արագությունը [70, 23]: Պրոբիոտիկ մանրէները պետք է օժտված լինեն նաև հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ [15]: Այդ նպատակով հետազոտվել են ընտրված ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը: Ըստ ընդունված մեթոդի օպտիկական խտությունը չափվում և վերահաշվարկվում բանաձևով (2.8.4. նյութեր և մեթոդներ): Ստացված տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 12-ում:

Ինչպես երևում է աղյուսակում բերված տվյալներից, ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները ցուցաբերում են տարբեր հակաօքսիդանտային ակտիվություն (ամենից բարձր հակաօքսիդանտային ակտիվություն ունեն այծի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները, իսկ ամենացածր՝ կովի կաթից անջատվածները):

Աղյուսակ 12.

ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը (MRS,37°C)

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	հակաօքսիդանտային ակտիվություն, %
1.	ավանակ	10	50±15
2.	այծ	29	76±10
3.	ոչխար	46	66±10
4.	գոմեշ	13	54±12
5.	կով	50	45±18

Քանի որ, հայտնի է որ սննդի կենսապահածոյացման համար կարելի է օգտագործել ԿԹԲ-ները, ենթադրվել է, որ այլ ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէները կարող են լայն կիրառում գտնեն սննդի կենսապահածոյացման մեջ:

3.2.5. ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվությունը

Պրոբիոտիկ հատկություններից ամենակարևորն է ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվության ուսումնասիրությունը: Վերջին տարիների հետազոտությունները ցույց են տվել, որ կաթնաթթվային բակտերիաները ճնշում են ինչպե՛ս Գրամ դրական, այնպե՛ս էլ Գրամ բացասական մանրէների աճը: Այդ նպատակով մեր կողմից ստացվել և ստուգվել են հետազոտվող 98 ԿԹԲ-ների ԿՀ-ներ ազդեցությունը թեսթ-կուլտուրաների նկատմամբ: Ստացված տվյալներից (աղյուսակ 13) երևում է, որ ընտանի կենդանիների կաթի ԿԹԲ-ներից ոչ բոլորն են դրսևորում հակամանրէային ակտիվություն՝ թեսթ-կուլտուրաներ՝ Գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium G-38*, Գրամ-դրական *Bacillus subtilis G17-89* (սպորավոր) պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ: Ինչպես երևում է՝ անջատված ԿԹԲ-ները ճնշում են Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական մանրէներին տարբեր արդյունավետությամբ:

Աղյուսակ 13.

ԿԹԲ-ի ԿՀ-ի հակամանրէային ակտիվությունը

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ,քանակ	թեսթ-կուլտուրաներ, %	
			Salmonella typhimurium G-38	*Bacillus subtilis G17-89*
1.	ավանակ	10	90±10	90±10
2.	այծ	29	56±15	76±13
3.	ոչխար	46	81±12	93±13
4.	գոմեշ	13	61±18	84±15
5.	կով	30	65±16	70±17

Ուսումնասիրվող մանրէների ԿՀ մեծ արդյունավետությամբ են ճնշում Գրամ-դրական մանրէ՝ *Bacillus subtilis G17-89*-ի աճը: Իսկ ավանակի կաթից անջատված մանրէները բարձր (90%) արդյունավետությամբ ճնշում են և՛ Գրամ-դրական, և՛ Գրամ-բացասական մանրէների աճը ի տարբերություն այլ կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների:

3.2.6. ԿԹԲ-ների կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ

Վերջին տասնամյակում հակաբիոտիկների լայնածավալ օգտագործումը հանգեցրել է ալերգիկ հիվանդությունների բարձրացմանը, ինչպես նաև հակաբիոտիկակայուն մանրէների տարածմանը [59, 61, 65]: Այսօր արդիական է գտնել կենսաբանական նյութեր, որոնք կարող են փոխարինել հակաբիոտիկներին: Այդ տեսանկյունից մեծ նշանակություն է տրվում ԿԹԲ-ներին, որոնք իրենց աճման ընթացքում սինթեզում են բակտերիոցիններ, որոնք ունեն հակամանրէային բակտերիոցիդ կամ բակտերիոստատիկ հատկություններ [95, 94, 73]: Քանի որ բուժական նպատակով օգտագործվող հակաբիոտիկները բացասաբար են անդրադառնում աղեստամոքսային համակարգում առկա մանրէների վրա, ուսումնասիրվել է անջատված մանրէների դիմացկունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ [15]:

Հետազոտել ենք ԿԹԲ-ների կայունությունը բժշկության մեջ առավել հաճախ կիրառվող հակաբիոտիկների նկատմամբ ստանդարտ սկավառակների մեթոդով (2.8.5. նյութեր և մեթոդներ) և տվյալները ներկայացված են NCCLS global consensus standard V. 22: Տվյալները բերված են աղյուսակ 14-17-ում և նկար 3-ում:

Աղյուսակ 14.

Այծի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ (MRS,37°C, 24ժ), Ø, մմ

N	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկ-սկավառակներ				
		Cefuroxim 30 µg	**Tetraciclyn 30 µg**	**Gentamicin 120 µg**	**Ofloxacin 5µg**	**Ciprofloxacin 30 µg**
1.	***LAB* sp. KA1**	12-15	12-13	-	-	-
2.	***LAB* sp. KA2**	-	15-17	-	7-10	10-14
3.	***LAB* sp. KA3**	10-11	-	12-15	-	9-10
4.	***LAB* sp. KA4**	7-9	-	-	10-12	10-15
5.	***LAB* sp. KA5**	22-24	20-25	-	-	-
6.	***LAB* sp. KA6**	-	-	22-24	10-14	19-20
7.	***LAB* sp. KA7**	8-9	25-27	8-10	18-20	-
8.	***LAB* sp. KA8**	10-12	-	-	20-23	8-12
9.	***LAB* sp. KA9**	-	10-13	-	-	-
10.	***LAB* sp. KA10**	-	-	-	-	-
11.	***LAB* sp. KA12**	-	-	-	15-16	-
12.	***LAB* sp. KA13**	-	-	-	-	-
13.	***LAB* sp. KA14**	-	-	-	-	-
14.	***LAB* sp. KA15**	-	14-15	10-15	-	-
15.	***LAB* sp. KA19**	-	-	-	-	-
16.	***LAB* sp. KA23**	-	-	-	10-19	-
17.	***LAB* sp. KA24**	-	-	-	-	-
18.	***LAB* sp. KA25**	-	-	-	-	-
19.	***LAB* sp. KA27**	-	-	-	-	-
20.	***LAB* sp. KA28**	-	12-13	-	-	-
21.	***LAB* sp. KA29**	-	-	-	-	-

Աղյուսակ 14-ի շարունակություն

N	ԿԹԲ	Cefuroxim 30 µg	Tetraciclyn 30 µg	Gentamicin 120 µg	Ofloxacin 5µg	Ciprofloxacin 30 µg
22.	*LAB* sp. KA30	-	-	-	-	-
23.	*LAB* sp. KA31	-	-	-	-	-
24.	*LAB* sp. KA32-1	-	-	-	-	-
25.	*LAB* sp. KA32-2	8-10	5-8	-	-	-
26.	*LAB* sp. KA33	8-10	10-12	-	5-7	-
27.	*LAB* sp. KA34	-	-	-	-	-
28.	*LAB* sp. KAP1	-	-	-	-	-
29.	*LAB* sp. KAP2	6-9	--	--	9-13	11-14

Աղյուսակ 15.

Ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ (MRS,37°C, 24ժ), Ø, մմ

N	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկ-սկավառակներ				
		Cefuroxim 30 µg	Tetraciclyn 30 µg	Gentamicin 120 µg	Ofloxacin 5µg	Ciprofloxacin 30 µg
1.	*LAB* sp.KV1	24-27	16-19	8-12	8-9	-
2.	*LAB* sp.KV2	26-28	-	-	7-9	12-17
3.	*LAB* sp.KV3	22-25	24-22	19-24	-	24-29
4.	*LAB* sp.KV4-1	32-35	22-26	-	8-10	8-10
5.	*LAB* sp. KV4-2	25-27	21-19	10-13	11-15	11-15
6.	*LAB* sp. KV5	21-22	15-18	23-25	-	-
7.	*LAB* sp. KV6	20-25	22-27	-	10-11	12-18
8.	*LAB* sp. KV7	27-29	25-29	-	-	-
9.	*LAB* sp. KV8	23-28	15-19	14-19	-	-
10.	*LAB* sp. KV9	10-14	-	-	20-21	21-19
11.	*LAB* sp. KV10	10-13	-	-	26-29	11-14
12.	*LAB* sp. KV11-1	10-15	-	-	6-10	21-26
13.	*LAB* sp. KV11-2	22-27	19-22	10-13	-	-
14.	*LAB* sp. KV12	14-19	7-15	10-14	-	-
15.	*LAB* sp. KV13	10-12	8-14	10-13	-	-
16.	*LAB* sp. KV14	10-11	-	-	6-8	8-10
17.	*LAB* sp. KV15-2	10-14	-	-	14-18	-

Աղյուսակ 15-ի շարունակություն

N	ԿԹԲ	Cefuroxim 30 µg	Tetraciclyn 30 µg	Gentamicin 120 µg	Ofloxacin 5µg	Ciprofloxacin 30 µg
18.	***LAB* sp. KV16**	10-13	-	-	-	10-14
19.	***LAB* sp. KV17**	-	-	-	-	-
20.	***LAB* sp. KV18**	-	-	-	-	-
21.	***LAB* sp. KV19**	-	-	-	-	-
22.	***LAB* sp. KV20**	-	10-15	-	-	-
23.	***LAB* sp. KVP1**	-	-	-	-	-
24.	***LAB* sp. KVP2**	-	-	-	-	-
25.	***LAB* sp. KV21**	-	-	-	-	-
26.	***LAB* sp. KV22**	-	-	-	-	-
27.	***LAB* sp. KV23**	-	-	-	-	-
28.	***LAB* sp. KV24**	-	-	-	-	-
29.	***LAB* sp. KV25**	-	-	-	-	-
30.	***LAB* sp. KV26**	5-9	-	12-16	-	9-11
31.	***LAB* sp. KV27**	-	-	-	-	-
32.	***LAB* sp. KV28**	-	-	-	-	-
33.	***LAB* sp. KV29**	-	-	-	-	-
34.	***LAB* sp. KV31**	-	-	10-14	-	19-20
35.	***LAB* sp. KV32**	17-18	-	-	-	-
36.	***LAB* sp. KV33**	-	-	-	-	8-10
37.	***LAB* sp. KV34**	10-13	21-24	5-10	13-14	14-17
38.	***LAB* sp. KV35**	-	-	-	-	-
39.	***LAB* sp. KV36**	-	25-29	-	-	-
40.	***LAB* sp. KV37**	-	-	-	-	-
41.	***LAB* sp. KV38**	-	17-18	21-25	-	13-16
42.	***LAB* sp. KV57**	10-15	21-25	5-8	13-17	14-19
43.	***LAB* sp. KV60**	-	-	-	-	-
44.	***LAB* sp. KV65**	-	25-27	-	-	-
45.	***LAB* sp. KV66**	-	-	-	-	-
46.	***LAB* sp. KV67**	-	17-18	21-24	-	13-17

Աղյուսակ 16.

Գոմեշի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ (MRS,37°C, 24ժ), Ø ,մմ

N	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկ-սկավառակներ				
		Cefuroxim 30 μg	Tetraciclyn 30 μg	Gentamicin 120 μg	Ofloxacin 5μg	Ciprofloxacin 30 μg
1.	*LAB* sp.KG1	25-28	15-19	-	10-12	22-25
2.	*LAB* sp. KG2	28-30	30-33	-	8-11	8-10
3.	*LAB* sp. KG3	21-27	22-25	23-24	-	10-15
4.	*LAB* sp. KG4	16-19	10-13	10-14	-	-
5.	*LAB* sp. KG5	20-23	20-26	26-28	-	8-12
6.	*LAB* sp. KG5-1	18-19	-	20-24	19-21	21-24
7.	*LAB* sp. KG6	23-24	22-25	-	-	11-16
8.	*LAB* sp. KG7	26-28	19-21	25-29	8-12	10-15
9.	*LAB* sp. KG8-1	21-25	22-27	21-26	26-30	-
10.	*LAB* sp. KG8-2	-	-	14-18	8-12	10-15
11.	*LAB* sp. KG9-1	19-21	26-29	10-13	11-16	14-17
12.	*LAB* sp. KG9-2	19-21	21-27	-	-	8-11
13.	*LAB* sp. KG10	10-15	-	-	26-28	21-25

Աղյուսակ 17.

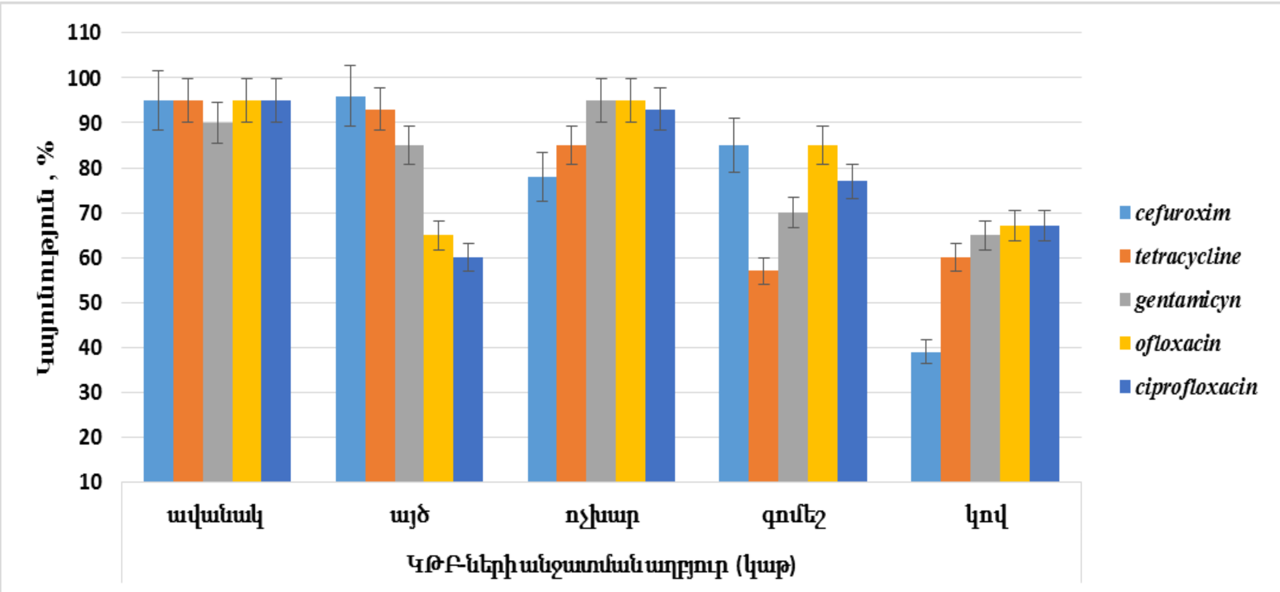
Ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ (MRS,37°C, 24ժ), Ø, մմ

N	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկ-սկավառակներ				
		Cefuroxim 30 μg	Tetraciclyn 30 μg	Gentamicin 120 μg	Ofloxacin 5μg	Ciprofloxacin 30 μg
1.	*LAB* sp.KE1	-	-	-	-	-
2.	*LAB* sp.KE2	8-15	19-21	10-14	-	10-15
3.	*LAB* sp.KE3	-	-	10-11	-	8-12
4.	*LAB* sp.KE4	-	-	-	-	-
5.	*LAB* sp.KE5	18-20	9-15	30-32	8-10	10-17

Աղյուսակ 17-ի շարունակություն

N	ԿԹԲ	Cefuroxim 30 µg	Tetraciclyn 30 µg	Gentamicin 120 µg	Ofloxacin 5µg	Ciprofloxacin 30 µg
6.	*LAB* sp. KE6	-	-	10-14	-	-
7.	*LAB* sp. KE7	-	-	-	-	-
8.	*LAB* sp. KE8	5-9	7-13	-	-	-
9.	*LAB* sp. KE9	10-16	8-10	-	10-18	-
10.	*LAB* sp. KE10	-	-	-	-	-

Աղյուսակներիի տվյալներից երևում է, այլ ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ները տարբեր կայունություն են ցուցաբերում հետազոտվող հակաբիոտիկների նկատմամբ: Տվյալները ամփոփված են նկար 3-ում



Նկար 3. ԿԹԲ-ների կայունություն հակաբիոտիկների նկատմամբ

Նկար 3-ում բերված տվյալներից երևում է, որ ավանակի և այծի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների 90%-ից ավելին, ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների 80%-ն, իսկ գոմեշի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մոտավորապես 60%-ն են կայուն հակաբիոտիկների նկատմամբ այն դեպքում երբ կովի կաթից անջատված մանրէները ցուցաբերել են ցածր կայունություն օգտագործվող հակաբիոտիկների նկատմամբ:

Այսպիսով, ավանակի և ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը որոշ հակաբիոտիկների նկատմամբ կարելի է բացատրել նրանով, որ ԱՀ տարբեր շրջաններում նշված ընտանի կենդանիների կանխարգելիչ բուժման նպատակով շատ քիչ հակաբիոտիկներ են օգտագործում և, ըստ այդմ, հետազոտվող ԿԹԲ-ների հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունություն ենթադրվում է պայմանավորված է նրանց վայրի ձևերով:

3.2.7. ԿԹԲ-ների ադհեզիվ հատկությունը

Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները անցնելով աղեստամոքսային ուղու տարբեր հատվածներով, կարող են ոչնչանալ, կամ օժտված լինեն ադհեզիվ հատկությամբ այսինքն ունակ լինեն կպչելու աղեստամոքսային համակարգի լորձաթաղանթին՝ մինչև առավելագույն դրական ներգործության հասցնելը [91, 22]:

Այդ նպատակով ուսումնասիրել ենք անջատված ԿԹԲ-ների ադհեզիայի հատկությունը մարդու բերանի խոռոչից անջատված էպիթելային բջիջների վրա (2.8.6.նյութեր և մեթոդներ): Ստացված արդյունքները ներկայացված են աղյուսակ 18-ում և նկար 4-ում:

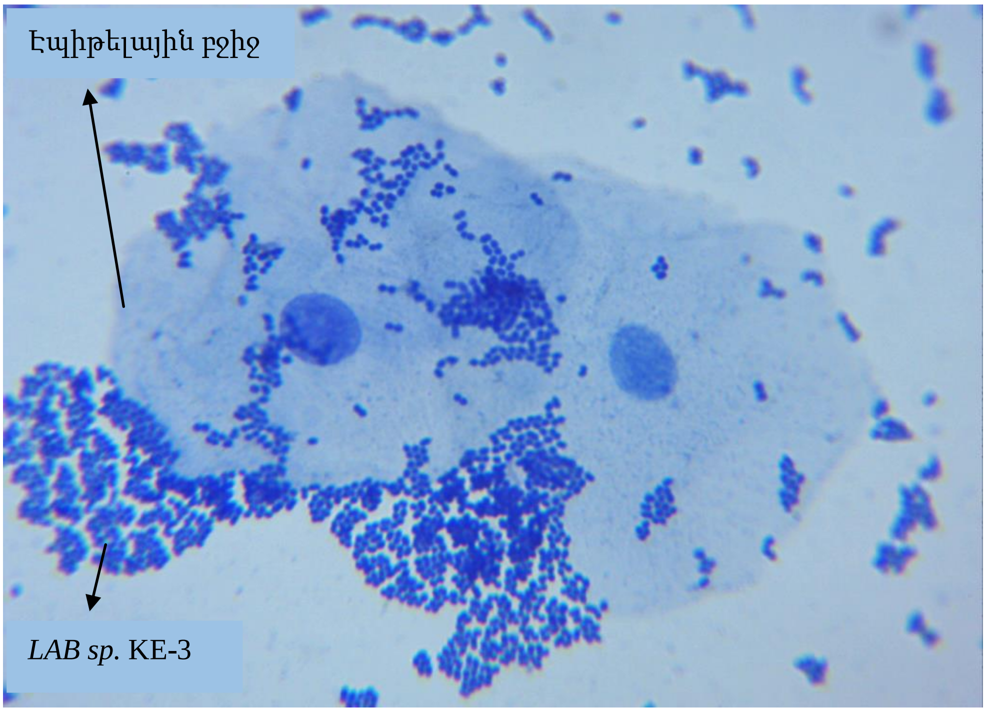
Աղյուսակ 18.

ԿԹԲ-ների ադհեզիվ հատկությունը

№	Մանրէների անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ, քանակ	ադհեզիվ հատկությունը, %
1.	**ավանակ**	10	50±10
2.	**այծ**	29	55±11
3.	**ոչխար**	46	44±8
4.	**գոմեշ**	13	61±13
5.	**կով**	50	40±8

Ստացված տվյալներից երևում է, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ի մոտավորապես 50% ունեն ադհեզիվ հատկություն: Համեմատելով կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների հետ, գոմեշի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները ցուցաբերում են ավելի բարձր ադհեզիվ հատկություն: Նկար 4-ում մանրադիտակի տակ բերված է ադհեզիայի պատկերը: Որպես օրինակ բերված է ավանակի կաթից անջատված ***LAB sp.*** **KE3**-ի բջիջների սոսնձումը էպիթելային բջիջների վրա, որն էլ ապացուցում է նրանց ադհեզիվ հատկությունը:

Այսպիսով, ստացված հետազոտությունների տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ ավանակի և այծի կաթից անջատված որոշ մանրէները, որոնք ցուցաբերում են pH-ի և պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ բարձր կայունություն կարող են առաջարկվել որպես պրոբիոտիկ շտամներ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի համար: Այծի և ոչխարի կաթից անջատված որոշ մանրէները, որոնք ցուցաբերում են բարձր հակաօքսիդանտություն կարող են կիրառվել սննդի կենսապահածոյացման համար, իսկ գոմեշի կաթից անջատված որոշ մանրէները, որոնք օժտված են ադհեզիվ հատկությամբ համապատասխան հետազոտություններից հետո կարող են օգտագործվել աղեստամոքսային ուղու որոշ հիվանդությունների բուժման նպատակով:



Նկար 4.Ադհեզիայի պատկեր

Ամփոփելով հետազոտությունների տվյալները՝ 98 ԿԹԲ-ներից ընտրվել են 18 ԿԹԲ-ներ, որոնք բավարարում են պրոբիոտիկ մանրէներին բնորոշ որոշակի պահանջներին: Անջատվել են ԿԹԲ-ների ԴՆԹ-ներ և այնուհետև ուղղարկվել է

Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերություն՝ նուկլեինաթթվային հաջորդականությունն որոշելու համար: Ստացված հաջորդականություններն համեմատվել են BLAST sequencing (ԱՄՆ) տվյալների բազայում գրանցված էտալոնային շտամների (ԱՄՆ) հաջորդականությունների հետ: 8 ԿԹԲ-ների նույնականացման արդյունքների տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 18-ում, մնացածները գտնվում են հետազոտության փուլում (հավելված 1):Հետազոտական աշխատանքների արդյունքերի հիման վրա ընտրված և նույնականացված ԿԹԲ-ների շտամները ավանդադրված են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի «Մանրէների ավանդադրման կենտրոն»-ում՝ համապատասխան համարների և ծածկագրերի տակ:

Աղյուսակ 19.

Ընտրված ԿԹԲ-ների նույնականացման տվյալները(16 s ռ-ՌՆԹ)

№	ԿԹԲ-ներ	Շտամ	ՄԱԿ շտամների համար	Մեկուսացման աղբյուր
1.	***LAB sp.*** **KAP1**	*Enterococcus faecium*	MDC 9667	այծի պանիր
2.	***LAB sp.*** **KA3**	*Enterococcus faecium*	MDC 9668	այծի կաթ
3.	***LAB sp.*** **KV15-1**	*Enterococcus faecium*	MDC 9669	ոչխարի կաթ
4.	***LAB sp.*** **KE5**	*Enterococcus faecium*	MDC 9662	ավանակի կաթ
5.	***LAB sp.*** **KE9**	*Enterococcus faecium*	MDC 9664	ավանակի կաթ
6.	***LAB sp.*** **KE6**	*Enterococcus durans*	MDC 9665	ավանակի կաթ
7.	***LAB sp.*** **KE10**	*Enterococcus durans*	MDC 9666	ավանակի կաթ
8.	***LAB sp.*** **KG5**	*Lactobacillus helveticus*	MDC 9663	գոմեշի կաթ

ԳԼՈՒԽ 4. ԸՆՏՐՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՎՆՀ ԽՏԱՆՅՈՒԹԵՐԻ ՄԱՔՐՈՒՄԸ ԵՎ ՄԵՏԱԲԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ

4.1. ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի գնահատումը

Գիտական գրականության բազմաթիվ աղբյուրների վերլուծությունը վկայում է, որ վերջին տասնամյակում մշակվել են բազմաթիվ մեթոդներ, որտեղ մաքրման տարբեր եղանակների համադրման միջոցով հաջողվել է հասնել սպիտակուցանման նյութերի մաքրման որոշակի բարձր աստիճանի: Օրինակ, նստեցումը աղերով և թթուներով, սպիտակուցանման նյութերի ադսորբցիան որոշակի կրիչների վրա և հետագա դեսորբցիան, իոնափոխանակային և հիդրոֆոբ քրոմատոգրաֆիան, բարձր թույլատրելիության հեղուկ քրոմատոգրաֆիան (HPLC), ժել ֆիլտրումը (Sephadex) և այլն [50, 106, 103, 9, 52]:

Մեր կողմից ԿՀ-ից սպիտակուցաբնույթի հակամանրէային նյութերի անջատման և մաքրման համար կիրառվել է օրգանական լուծիչով (սպիրտ 96%) նստեցում (1:1), որից հետո ժել-ֆիլտրման եղանակների համադրումը (2.9.3 նյութեր և մեթոդներ): Այդ նպատակով ԿԹԲ-ների MRS միջավայրում առանձին աճեցումից ստացված կուլտուրալ հեղուկները մշակվել են վերը նշված եղանակով: Քանի որ ԿԹԲ ***L.helveticus*** **KG5**–ը չի աճում MRS արգանակում, ուստի այն աճեցվել է շիճուկ պարունակող միջավայրում (2.9.2.նյութեր և մեթոդներ):

Ստորև բերված են ***LAB sp.*** **KE3** և ***LAB sp.*** **KE1**, ***L. helveticus*** **KG5** և ***LAB sp.*** **KG1,** ***Ent. faecium*** **KV15-1** և ***LAB sp.*** **KV15-2,** ***Ent. faecium*** **KA3** և ***Ent. faecium*** **KAP1,** մասնակի մաքրված ՎՆՀ խտանյութերի հակամանրէային հատկություններով օժտված մասնաբաժինների ելքը ժել-ֆիլտրման եղանակով (Sephadex G-25): Ընդհանուր ամփոփված տվյալները բերված են աղյուսակ 20-ում: Որպես թեսթ-կուլտուրա օգտագործվել է *Bacillus subtilis G17-89:*

Ինչպես երևում է աղյուսակից՝ ՎՆՀ-ի մասնաբաժինների հակամանրէային ակտիվությունը և մասնաբաժինների ծավալը տարբեր է տարբեր շտամների մոտ: Ամենից ցածրը ***LAB sp.*** **KG1**-ն (1800 ԱՄ/մլ) է**,** իսկ ամենից բարձրը ***LAB sp.*** **KE3** (4500

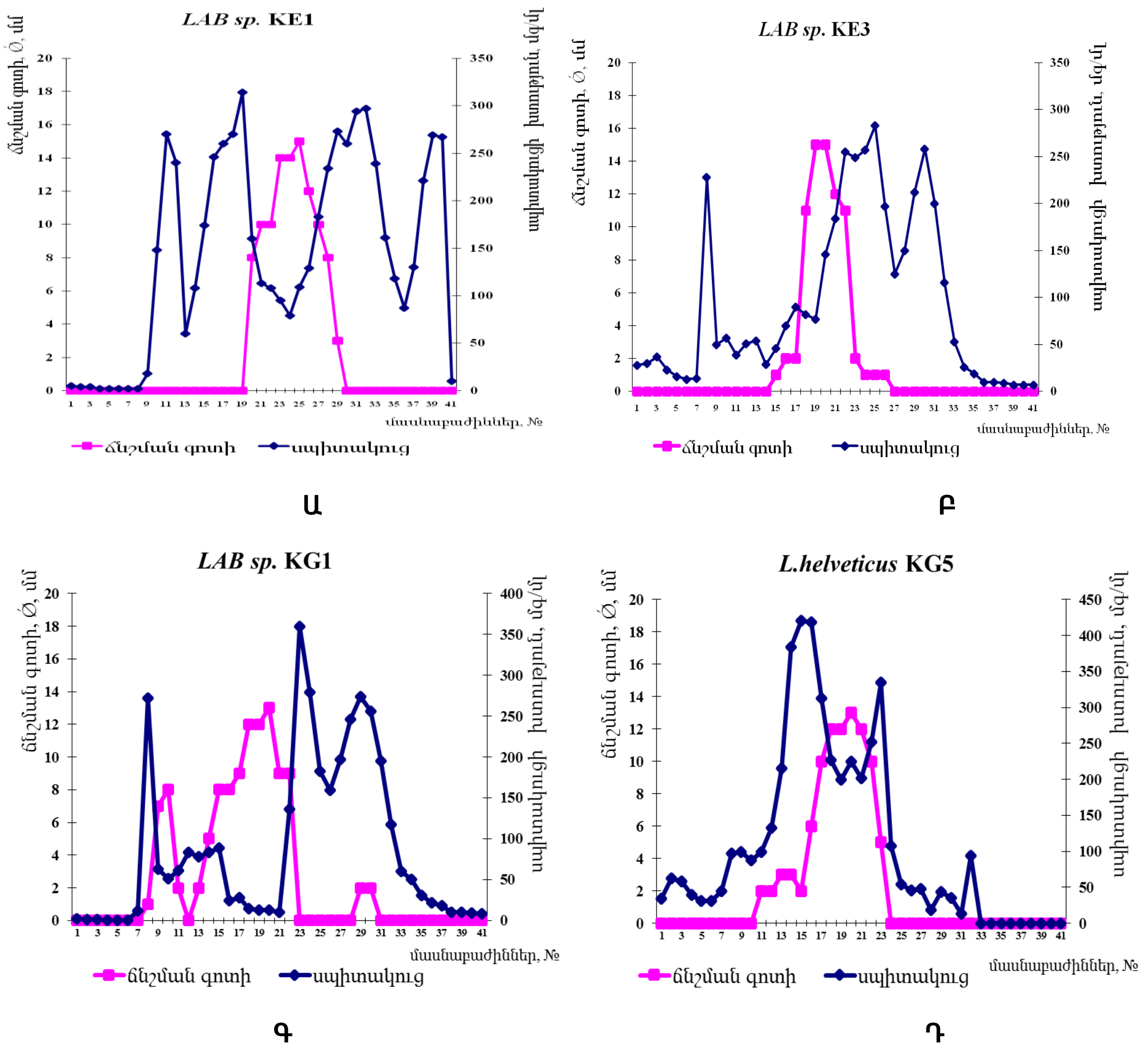
ԱՄ/մլ), չնայած, որ մանրէները աճեցվել են նույն պայմաններում, սակայն նկատվում է տարբերություն կախված ԿԹԲ-ների անջատման աղբյուրից:

Աղյուսակ 20.

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների ելքերի բնութագրերը՝ մաքրումից հետո՝ ժել-ֆիլտրում (Sephadex G-25)

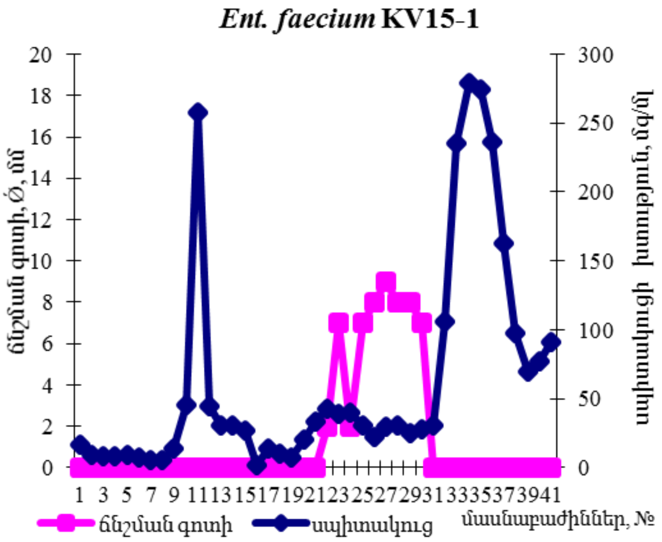
N	Նմուշներ	Աճեցում		Մասնաբաժիններ,		
		Միջավայր	^{0}C	Քանակը	ելքը, մլ	ԱՄ/մլ
1.	***LAB sp.*** **KE1**	MRS	42	15-27	6.5	4000
2.	***LAB sp.*** **KE3**	MRS	42	19-31	6.0	4500
3.	***Ent. faecium*** **KV15-1**	MRS	37	21-25, 25-31	5.5	3000
4.	***LAB sp.*** **KV15-2**	MRS	37	27-41	7.5	3500
5.	***Ent. faecium*** **KAP1**	MRS	37	11-13,15-26	7.5	2800
6.	***Ent. faecium*** **KA3**	MRS	37	11-25	7.5	3500
7.	***LAB sp.*** **KG1**	MRS	37	11-23	6.5	1800
8.	***L. helveticus*** **KG5**	Շիճուկ	37	7-11,13-23	8.0	3000

Նկար 5-ում բերված տվյալները ցույց են տալիս, որ նույն պայմաններում աճեցված **ավանակի** կաթից անջատված ՝ ***LAB sp.*** **KE 1** և ***LAB sp.*** **KE3** մանրէների ՎՆՀ-երը մասնակի քրոմատոգրաֆիական մեթոդով մաքրելուց հետո ստացվել են 12 մասնաբաժիններ(0.5մլ), որոնք օժտված են հակամանրէային ակտիվությամբ (ճնշման գոտի): Հավաքված մասնաբաժինները անվանվել են մետաբիոտիկ-հակամանրէային պատրաստուկ (ՀՄՊ): Ինչպես երևում է բերված կորից այս մանրէները սինթեզում են տարբեր սպիտակուցանման նյութեր, որոնք չունեն հակամանրէային ակտիվություն (Նկար 5, Ա, Բ):

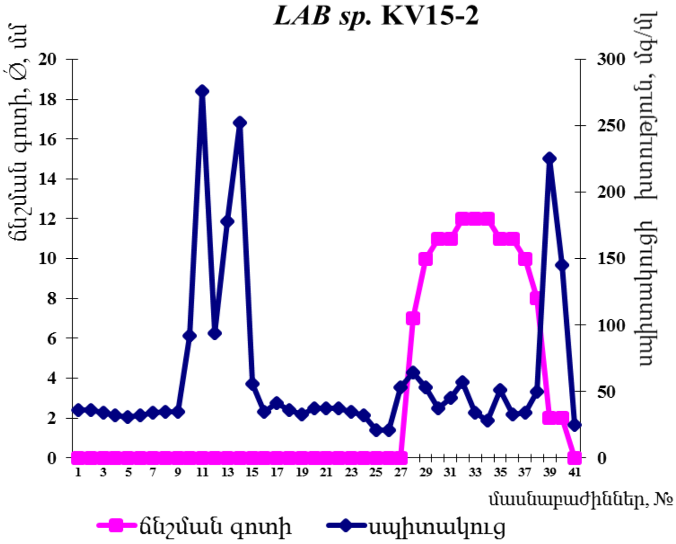


Նկար 5 (Ա, Բ, Գ, Դ). Տարբեր շտամների ՎՆՀ մասնակի մաքրման արդյունքները

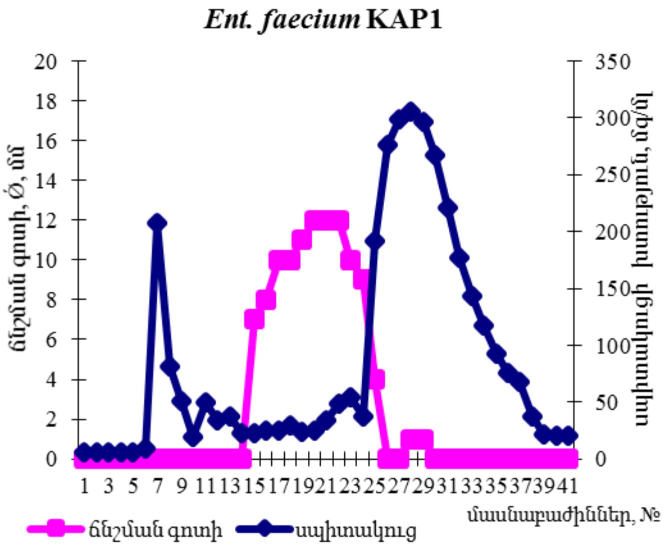
Նկար 5-ում (Գ, Դ) ներկայացված են **գոմեշի** կաթից անջատված ***L.helveticus*** **KG5** և ***LAB sp.*** **KG1** շտամների ՎՆՀ-ների մասնակի քրոմատոգրաֆիական մեթոդով մաքրելուց հետո ստացված մետաբիոտիկների ելքը: ***L.helveticus*** **KG5** ՎՆՀ-ի կորերը պարունակում են 16 հակամանրէային մասնաբաժիններ (0.5), իսկ ***LAB sp.*** **KG1** ՎՆՀ-ի ունի 13 հակամանրէային մասնաբաժինների ելք: Այս ՎՆՀ-ների կորերը տարբերվում են սպիտակուցի ելքով և հակամանրէային ակտիվությամբ: Կարելի է ենթադրել, որ այդ շտամների մետաբիոտիկները պատկանում են տարբեր ցեղերի:



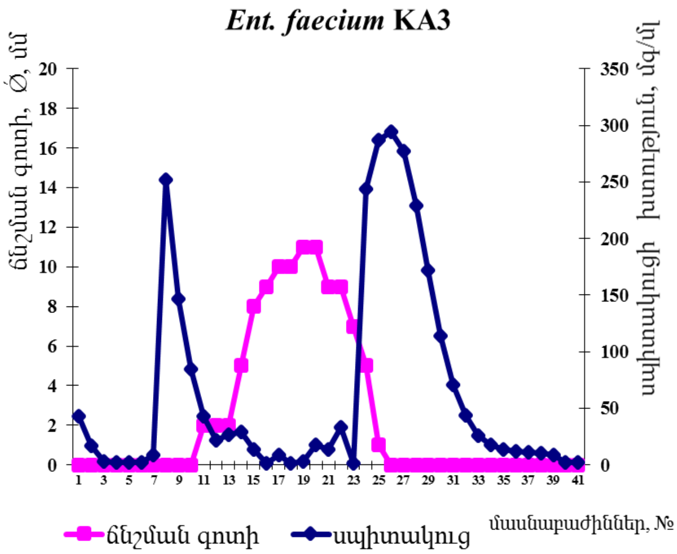
Ե



Զ



Է



Ը

Նկար 5. (շարունակություն)

Ինչպես երևում է բերված տվյալներից **ոչխարի** կաթից անջատված ԿԹԲ (Նկար 5, Ե, Զ) ***Ent. faecium*** **KV15-1** ՎՆՀ-ի և ***LAB sp.*** **KV15-2** ՎՆՀ-ի կորերը չեն տարբերվում իրենց տեսքով, սակայն տարբերվում են հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված մասնաբաժինների ելքով: Այսպիսով կարելի է ենթադրել, որ այս երկու մանրէները տարբերվում են իրենց մետաբիոտիկների սինթեզով:

Հակամանրէային մասնաբաժինների ելքի տարբերությունը ՎՆՀ -ի մաքրումից հետո նկատվում է նաև **այծի** կաթից անջատված մանրէների 2 հետազոտված շտամների մոտ: Այսպես ***Ent. faecium*** **KAP1** և ***Ent. faecium*** **KA3** ՎՆՀ -ի մաքրումը ցույց տվեց, որ այս մանրէները տարբերվում են իրենց մասնաբաժինների ակտիվությամբ: Կարելի է ենթադրել, որ այս մանրէների մետաբիոտիկները նույնատիպ են, սակայն տարբերվում են (Նկար 5 Է, Ը):

Այսպիսով, ՎՆՀ-ի մաքրումը օգտագործվող մեթոդով ցույց է տալիս, որ անջատված մանրէները ունեն տարբեր մետաբիոտիկների ելք՝ օժտված հակամանրէային ակտիվությամբ, որոնք տարբերվում են նաև սպիտակուցանման նյութերի սինթեզով:

4.2. Աճման պայմանների ազդեցությունը մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվության դրսևորման վրա

Հայտնի է, որ կախված աճման պայմաններից (ջերմաստիճան, սննդամիջավայր) հակամանրէային նյութերի (մետաբիոտիկների) սինթեզը տարբերվում է [18]: Այդ նպատակով հետազոտվել է մետաբիոտիկների ելքը կախված աճեցման պայմաններից: Օգտագործվել են MRS և շիճուկի հիման վրա պատրաստված միջավայրերը (2.1.նյութեր և մեթոդներ): Ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները (թերմոֆիլներ) աճեցվել են 42^0C, իսկ մնացածները՝ 37^0C: Ստացված ՎՆՀ-ները մաքրել ենք ժել-ֆիլտրման մեթոդով: Մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը ստուգվել է Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական մանրէների նկատմամբ: Տվյալները բերված են աղյուսակ 21-ում:

Աղյուսակ 21-ում բերված տվյալները վկայում են, որ ընտրված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկները ցուցաբերում են տարբեր հակամանրէային ակտիվություն կախված ԿԹԲ-ների աճման միջավայրից: Այսպես, օրինակ, համեմատելով տվյալները երևում է, որ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ի մետաբիոտիկ ***LAB sp.*** **KE1**-ի հակամանրէային ակտիվությունը կազմում է միջավայր 1 կազմում է 1400 ԱՄ/մլ, միջավայր 2 կազմում է 2800 ԱՄ/մլ: Ավանակի կաթից անջատված ***LAB sp.*** **KE3** և ***LAB sp.*** **KE5** մետաբիոտիկների ակտիվությունը կախված չէ միջավայրից և կազմում է 3600 ԱՄ/մլ: Ոչխարի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը կախված է միջավայրից՝ ***Ent. faecium*** **KV15-1** միջավայր 1 կազմում է 400 ԱՄ/մլ, միջավայր 2՝ 900 ԱՄ/մլ, իսկ ***LAB sp.*** **KV15-2** ստացված մետաբիոտիկի հակամանրէային ակտիվությունը կախված չէ միջավայրից այլ օգտագործվող թեսթ կուլտուրայից: Այծի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը կախված չէ միջավարից: Գոմեշի կաթի նույն նմուշից անջատված ԿԹԲ-ներ ***L.helveticus*** **KG5** և ***LAB sp.*** **KG5-1** մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը ևս կախված է միջավարից: Նույն համաչափություն նկատվում է և՛ Գրամ-դրական և՛ Գրամ-բացասական մանրէների հանդեպ:

Աղյուսակ 21.

Մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը կախված ԿԹԲ-ների աճման միջավայրից (ԱՄ/մլ)

№	Անջատման աղբյուր, կաթ	Աճեցման միջավայր	ԿԹԲ	pH	^{0}C	Հակամանրէային Ակտիվություն Au/ml	
						Bacillus subtilis G17-89	***Salmonella yphimurium 38***
1	**ավանակ**	1	***LAB sp.*** KE1	4.5	42	1400	3200
2		2	***LAB sp.*** KE1	4.5	42	2800	3200
3		1	***Ent. durans*** KE5	4.5	42	3600	2500
4		2	***Ent. durans*** KE5	4.5	42	3600	2400
5		1	***LAB sp.*** KE3	4.5	42	3600	4000
6		2	***LAB sp.*** KE3	4.5	42	3400	2100
1	**ոչխար**	1	***LAB sp.*** KV15-2	4.3	37	2500	2000
2		2	***LAB sp.*** KV15-2	4.3	37	2500	2000
3		1	***Ent. faecium*** KV15-1	5.0	37	400	400
4		2	***Ent. faecium*** KV15-1	4.7	37	900	800
1	**այծ**	1	***Ent. faecium*** KA3	5.2	37	2400	900
2		2	***Ent. faecium*** KA3	4.7	37	2400	1800
3		1	***Ent. faecium*** KAP1	4.7	37	2500	1500
4		2	***Ent. faecium*** KAP1	4.5	37	3000	2400
1	**գոմեշ**	1	***LAB sp.*** KG1	5.3	37	3500	1600
2		2	***LAB sp.*** KG1	4.8	37	1500	1200
3		1	***LAB sp.*** KG5-1	5.3	37	900	800
4		2	***LAB sp.*** KG5-1	4.8	37	1600	1200
5		1	***L. heiveticus*** KG5	4.0	37	3500	1600
6		2	***L. heiveticus*** KG5	Աճի բացակայություն			

«1»- Շիճուկ
«2»- MRS

Այսպիսով, ստացված տվյալները վկայում են, որ տարբեր ընտանի կենդանիների ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ից ստացված մետաբիոտիկները դրսևորում են տարբեր հակամանրէային ակտիվություն կախված սննդարար միջավայրից, մանրէների մեկուսացման աղբյուրից և տեսակային պատկանելությունից (***Ent. faecium, Ent. durans***)։

4.3. ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների ջերմակայունությունը

ԿԹԲ-ները և դրանց կողմից սինթեզվող հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված միացությունները հանդիսանում են բնական կենսապահածոյացման միջոցներ [85]։ Սննդարդյունաբերության մեջ ԿԹԲ-ները կիրառվում են հիմնականում երեք եղանակով՝ բակտերիոցին սինթեզող ԿԹԲ-ների աճեցում անմիջապես արտադրանքի մեջ, մաքրված կամ մասնակի մաքրված կենսաարգասիքների ավելացում ապրանքատեսակների մեջ և սննդի հումքի նախապես մշակում բակտերիոցին սինթեզող ԿԹԲ-ներով [39,52]։ Քանի որ սննդամթերքները ենթարկվում են ջերմամշակման, ընդունված է ուսումնասիրել կենսաարգասիքների (մետաբիոտիկների) ջերմակայունությունը։ Հայտնի է, որ ցածր մոլեկուլային կշռով սպիտակուցաբնույթի նյութերը ջերմակայուն են մինչև 121°C [67]։ Այդ նպատակով ուսումնասիրվել են ***L. helveticus*** **KG5**, ***Ent. faecium*** **KV15-1**, ***Ent. faecium*** **KA3**, ***Ent. faecium*** **KAP1**, ***LAB sp.*** **KG1**, ***LAB sp.*** **KV15-2**, ***LAB sp.*** **KE5**, ***LAB sp.*** **KE3** ստացված մետաբիոտիկների ջերմակայունությունը՝ 50°C 20 րոպե և 121°C 15 րոպե ջերմաստիճանային պայմաններում, pH-ի երկու տիրույթներում։ Աղյուսակ 18-ում բերված տվյալներից երևում է, որ ջերմամշակումից հետո ընտրված պրոբիոտիկ հատկություններով ***Ent. faecium*** **KV15-1 և** ***Ent. faecium*** **KA3** շտամների ԿՀ-ից ստացված մետաբիոտիկները չեն ճնշում թեսթ-կուլտուրա Գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium G-38* աճը, որը առկա էր մինչև ջերմամշակումը։ Դա կարելի է բացատրել նրանով, որ նշված ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող հակամանրէային մետաբիոտիկները դիմացկուն չեն 121^0C։ Իսկ ***LAB sp.*** **KV15-2**, ***LAB sp.*** **KE3*****, LAB sp.*** **KE5**, ***LAB*** **sp. KG1** շտամների ԿՀ-ից ստացված մետաբիոտիկները ջերմակայուն են մինչև 121°C 20 րոպե [67]: Ստացված նախնական տվյալները ցույց են տալիս, որ ***LAB sp.*** **KE5** մետաբիոտիկը սինթեզում է բակտերիոցին 3000 ԴԱ մոլեկուլյար կշիռով: Այլ մետաբիոտիկների մոլեկուլյար կշռի հաստատումը հետազոտվում է:

Աղյուսակ 22.

ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների ջերմակայունությունը, Ø, մմ

Անջատման աղբյուր, կաթ	ԿԹԲ	***Bacillus subtilis 17-89***				***Salmonella typhimurium G-38***			
		pH							
		4.5	6.0	4.5	6.0	4.5	6.0	4.5	6.0
		50°C		121°C		50°C		121°C	
այծ	***Ent. faecium*** **KAP1**	13±4	0	10±5	0	15±1	0	10±3	0
	Ent.faecium **KA3**	15±2	0	12±4	0	10±3	9±5	0	0
գոմեշ	***LAB*** **sp. KG1**	12±3	9±4	10±5	8±6	13±3	8±4	12±2	8±5
	L. helveticus **KG5**	15±2	12±3	13±3	0	12±5	0	15±2	0
ոչխար	***Ent. faecium*** **KV15-1**	16±1	12±4	8±5	8±5	11±7	9±3	0	0
	LAB **sp. KV15-2**	15±1	12±5	12±3	10±4	12±4	10±3	11±2	9±4
ավանակ	***LAB*** **sp. KE3**	10±3	12±4	10±4	12±5	10±5	9±6	13±3	9±6
	Ent. durans **KE5**	13±2	10±6	10±5	8±7	11±6	8±4	13±2	10±2

0-ճնշման բացակայություն

Այսպիսով տարբեր կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկները ցուցաբերում են տարբեր ջերմակայունություն՝ կախված թեսթ-կուլտուրաների տեսակից, pH-ի տիրույթից և ջերմաստիճանից:

ԳԼՈՒԽ 5. ՍՏԱՑՎԱԾ ՄԵՏԱԲԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱԽՏԱԾԻՆ ՄԱՆՐԷՆԵՐԻ ԱՃԻ ՎՐԱ

5.1.Մետաբիոտիկների ազդեցությունը հիվանդներից անջատված հակաբիոտիկակայուն ախտածին մանրէների աճի վրա

Միկրոֆլորայի մեծ մասը (միկրոբիոցենոզ) կազմում են այն մանրէները, որոնք սիմբիոզի մեջ են գտնվում մարդու հետ: Այլ կերպ ասած, մանրէների հիմնական մասը ստանում է մարդուց օգուտ՝ մշտական ջերմաստիճանի և խոնավության, սննդանյութերի, ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների պաշտպանության տեսքով: Այդ մանրէները իրենք ևս օգուտ են տալիս՝ սինթեզելով վիտամիններ, ճեղքելով սպիտակուցներ, մրցակցության մեջ մտնելով ախտածին մանրէների հետ: Միևնույն ժամանակ, այդ շահավետ բակտերիաների հետ միասին կան նաև «սենյակակիցներ», որոնք զգալի վնաս չեն տալիս, բայց որոշակի պայմաններում դառնում են ախտածին: Այդպիսի մանրէները կազմում են պայմանական ախտածին միկրոֆլորան: Պայմանական ախտածին մանրէների խմբին են պատկանում *Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* և այլն [73, 78, 76]:

Proteus mirabilis-ը գրամ բացասական, ֆակուլտատիվ անաերոբ, ցուպիկաձև մանրէ է: *P. mirabilis* մանրէն տարածված է հողի և ջրի մեջ և առաջացնում է մարդկանց մոտ Proteus-ի բոլոր վարակների 90% -ը: Proteus-ի տեսակները կարող են պատճառ հանդիսանալ վերքային վարակների, թոքաբորբի և այլն: *P.mirabilis*-ը, ընդհանուր առմամբ, զգայուն է հակաբիոտիկների մեծ մասի նկատմամբ, բացի տետրացիկլինից և նիտրոֆուրանթանից, սակայն *P.mirabilis*-ի 10-20% -ը նույնպես դիմացկուն են առաջին սերնդի ցեֆալոսպորինի և ամպիցիլինի նկատմամբ[78]:

Բնակչության մոտավորապես 25-40%-ը համարվում են *Staphylococcus aureus* բակտերիայի մշտական կրողներ, որը կարող է լինել մաշկի ծածկույթի և վերին շնչուղիների լորձաթաղանթի վրա [68]: *S. aureus*-ը կարող է առաջացնել մի շարք հիվանդություններ, սկսած մաշկի թեթև վարակներից, թարախակույտից մինչև մահացու հիվանդությունների՝ թոքաբորբ, մենինգիտ, ոսկրախտ, էնդոկարդիտ և այլն:

Պենիցիլինի հայտնաբերման և օգտագործման օրվանից սկսած առաջացել է մուտացիաներ, որի հետ կապված ներկա ժամանակներում շտամերի մեծ մասը կայուն են այդ հակաբիոտիկների նկատմամբ: Մանրէի դեմ պայքարելու համար լայնորեն օգտագործում են մետիցիլինը, քիմիապես փոփոխված պենիցիլինը: Բայց այսօր հանդիպում են նաև շտամներ, որոնք կայուն են մետիցիլինի նկատմամբ [105]:

Pseudomonas aeruginosa-ն բուժվում է դժվար, որը պայմանավորված է հակաբիոտիկների նկատմամբ բարձր կայունությամբ [32]:

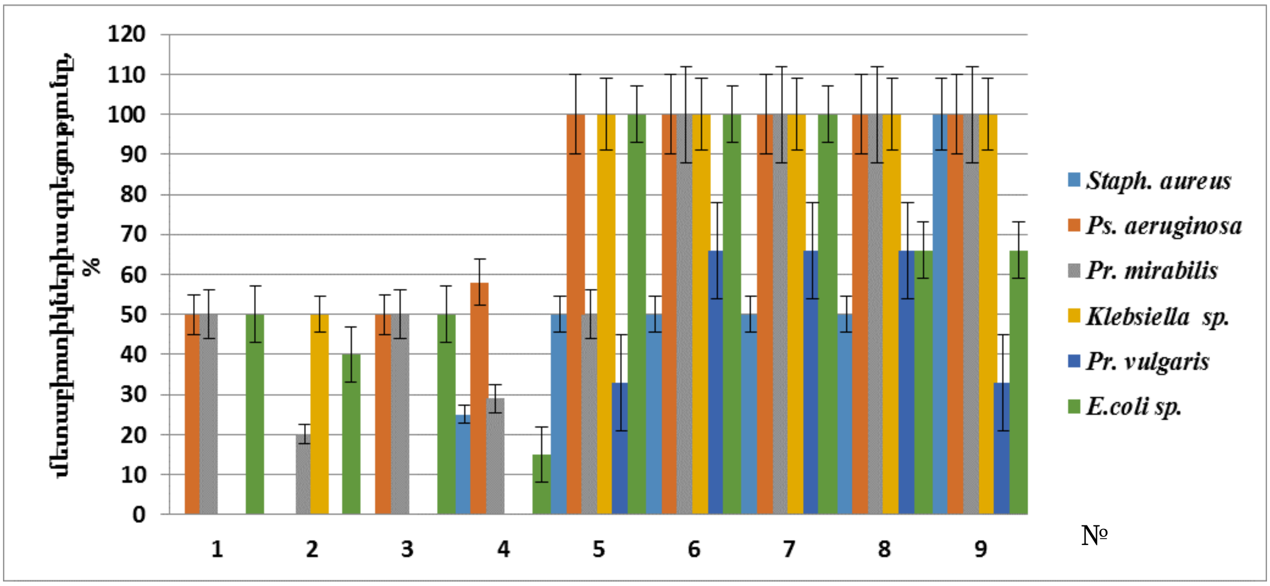
Աղյուսակ 23.

Մետաբիոտիկների (100ԱՄ/մլ) ազդեցությունը պայմանական ախտածին մանրէների աճի վրա,%

Անջատման աղբյուր կաթ	Մետաբիոտիկի անջատման աղբյուր	Հիվանդ մարդուց անջատված ախտածին մանրէ					
		Staph. aureus	*Ps. aeruginosa*	*Pr. mirabilis*	*Klebsiella pneumonia*	*Pr. vulgaris*	*E.coli*
		n=15	*n=16*	*n=18*	*n=5*	*n=11*	*n=20*
ավանակ	***Ent.faecium* KE5**	93±10	87±10	66±13	50±15	75±12	66±17
	LAB sp.KE3	93±10	93±10	66±14	40±19	25±12	33±18
այծ	***Ent.faecium* KAP1**	50±15	93±9	50±16	93±9	33±17	95±7
	***Ent.faecium* KA3**	50±16	80±12	94±8	90±10	66±13	95±8
գոմեշ	***L.helveticus* KG5**	50±15	80±17	94±9	90±10	66±15	95±8
	LAB sp. KG1	50±16	93±9	89±11	90±10	66±18	66±15
ոչխար	***Ent.faecium* KV15-1**	87±13	87±13	83±10	90±10	33±12	66±13
	LAB sp. KV15-2	0	50±12	50±17	90±10	66±17	33±15
կով	***Ent.durans* P13**	25±15	58±18	29±13	0	0	15±17
	***Ent.faecium* M14**	0	50±16	50±16	0	0	50±10

0-ճնշման բացակայություն

Հայտնի է, որ այսօր մեծ բարդություն են ներկայացնում հակաբիոտիկակայուն մանրէները: Այդ պատճառով մեր հետազոտության նպատակներից մեկն էր, ուսումնասիրել ստացված մետաբիոտիկների ազդեցությունը պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ, որոնք անջատվել են հիվանդ մարդուց (մեզից, կղանքից, վերքից, արյունից և այլն): 2011 թվականից առ այսօր Արցախի Հանրապետության Համաճարակաբանության և հիգիենայի կենտրոնում ուսումնասիրվել են մետաբիոտիկների ազդեցությունը պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ: Տվյալները բերված են աղյուսակ 23-ում և նկար 6-ում:



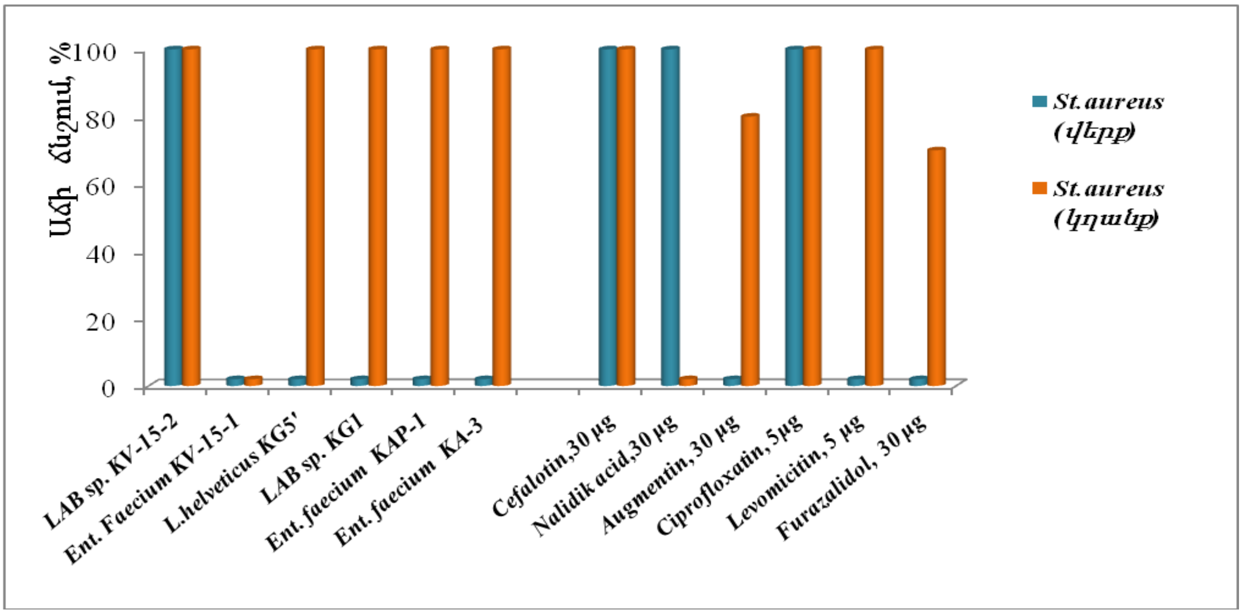
Նկար 6.Ստացված մետաբիոտիկների (100ԱՄ/մլ) ազդեցությունը պայմանական ախտածին մանրէների աճի վրա

№1-*Ent.faecium* M14, №2-*Ent.durans* M42, №3-*Ent.durans* M44, №4-*Ent.durans* P13, №5-*Ent.faecium* KAP1, №6-*Ent.faecium* KA3, №7-*L.helveticus* KG5, №8-*LAB sp.* KG1, № 9-*LAB sp.* KV15-2

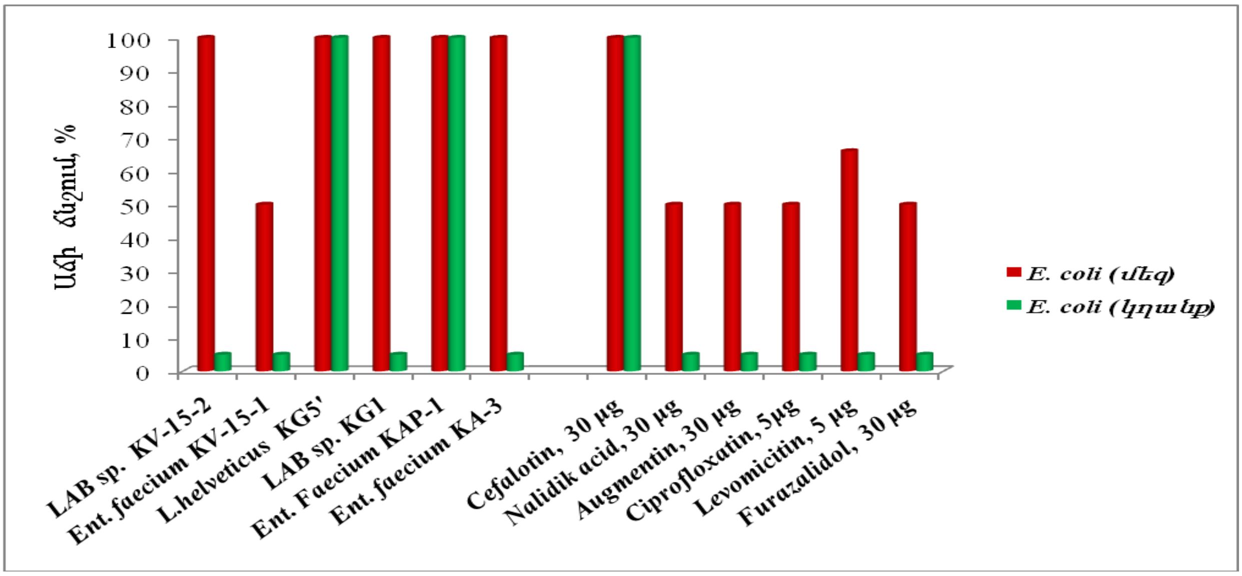
Աղյուսակ 23-ի և նկար 6-ի բերված տվյալներից երևում է, որ տարբեր կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ներ տարբեր կերպ են ազդում հիվանդներից անջատված պայմանական ախտածին մանրէների աճի վրա: Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ներից ստացված մետաբիոտիկները **(№5-*Ent.faecium* KAP1, №6-*Ent.faecium* KA3, №7-*L.helveticus* KG5, №8-*LAB sp.* KG1, № 9-*LAB sp.*KV15-2)** ավելի արդյունավետ են ճնշում պայմանական ախտածին մանրէների աճը, քան կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկները (**№1-*Ent.faecium* M14, №2-*Ent.durans* M42, №3-*Ent.durans* M44, №4-*Ent.durans* P13**): Ուսումնասիրել ենք նաև հակաբիոտիկների և ստացված մետաբիոտիկների ազդեցությունը հիվանդներից (մեզ, կղանք, վերք) անջատված պայմանական ախտածին մանրէներ՝ ***E.coli*** և ***St.aureus*** նկատմամբ:

Ստացված տվյալներից երևում է, որ ***E.coli***-ի (մեզից և կղանքից անջատված) բուժման ժամանակ Cefalotin - 30 մգ, Nalidixic acid - 30 մգ, Augmentin - 30 մգ, Ciprofloxatin - 5 մգ, Levomicitin - 5 մգ հակաբիոտիկներին կարելի է փոխարինել ***Ent.faecium* KAP1 և *L.helveticus* KG5** մետաբիոտիկներով, որոնք Cefalotin – 30 մգ հակաբիոտիկի նման բարձր արդյունավետություն ունեն և ավելի ուժեղ են ճնշում աճը, քան Nalidixic acid – 30 մգ, Augmentin – 30 մգ, Ciprofloxatin – 5 մգ, Levomicitin – 5 մգ հակաբիոտիկները:

E.coli



St.aureus



Նկար 7 (Ա, Բ). Մետաբիոտիկների և հակաբիոտիկների համեմատական ազդեցությունը (100ԱՄ/մլ) տարբեր աղբյուրներից անջատված պայմանական ախտածին մանրէների աճի վրա

St. aureus պայմանական ախտածին մանրէի նկատմամբ ավելի բարձր արդյունավետություն ունի ***LAB sp.*** **KV15-2**-ի շտամի ՎՆՀ-ից ստացված մետաբիոտիկ, որը կարող է փոխարինել Cefalotin - 30 մգ, Nalidixic acid - 30 մգ, Augmentin - 30 մգ, Ciprofloxatin - 5 մգ, Levomicitin - 5 մգ, Furazalidol – 30 մգ հակաբիոտիկներին:

Աղյուսակ 24.

Մետաբիոտիկների և հակաբիոտիկների ազդեցությունը տարբեր աղբյուրներից անջատված պայմանական ախտածին մանրէների աճի վրա,%

մետաբիոտիկ, հակաբիոտիկ	**Հակաբիոտիկակայուն մանրէ**			
	E.coli		***St.aureus***	
	մեզ	**կղանք**	**վերք**	**Կղանք**
LAB sp. **KV15-2**	0	90±10	90±10	90±10
Ent. faecium **KV15-1**	0	50±15	0	0
L. helveticus **KG5**	90±10	90±10	0	90±10
LAB sp. **KG1**	0	90±10	0	90±10
Ent. faecium **KAP1**	90±10	90±10	0	90±10
Ent. faecium **KA3**	50±5	90±10	0	90±10
Cefalotin, 30 μg	90±10	90±10	90±10	90±10
Nalidixic acid, 30 μg	0	50±16	90±10	0
Augmentin, 30 μg	0	50±15	0	80±12
Ciprofloxatin, 5μg	0	50±16	90±10	90±10
Levomicitin,5 μg	0	66±15	0	90±10
Furazalidol, 30 μg	0	50±17	0	70±13

Այսպիսով, ընտրված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկները ցուցաբերում են տարբեր ազդեցություն, իսկ ***LAB sp.*** **KAP1,** ***L.helveticus*** **KG5,** ***LAB sp.*** **KV15-2**-ը մանրէները կարող են ապագայում փոխարինել հակաբիոտիկներին:

5.2.Մետաբիոտիկների ազդեցությունը սնունդ փչացնող մանրէների աճի վրա

Նվազագույն մշակվող սննդի և առանց քիմիական պահպանիչների սննդի օգտագործման սպառողական պահանջարկը խթանել է հետազոտողներին՝ փնտրել բնական հակամանրէային նյութեր: Կենսապահպանումը հիմնված է միկրոօրգանիզմների կամ դրանց նյութափոխանակության արգասիքների հակաօքսիդանտային հատկության վրա, որի շնորհիվ սննդամթերքում կանխվում կամ ոչնչացվում են անցանկալի մանրէները: Ներկայումս կաթնաթթվային բակտերիաները (ԿԹԲ) և նրանցից սինթեզված հակամանրէային նյութերը, այդ թվում, բակտերիոցինները համարվում են բնական պահպանիչներ կամ կենսապահպանիչներ [80]: Ցույց է տրված, որ Lactobacillus ցեղի մանրէները կարելի է օգտագործել որպես կենսապահպանիչ [87,63]: Այդ նպատակով մեր կողմից, Արցախում և Հայաստանում արտադրվող տարբեր սննդամթերքներից անջատվել են սնունդը փչացնող մանրէներ: Սննդարար միջավայրի (Nutrient agar) վրա ուսումնասիրվել և ընտրվել են սնունդ փչացնող մանրէներ և պայմանականորեն համարակալվել:

Ուսումնասիրվել են տարբեր ԿԹԲ-ներից ստացված մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը սնունդ փչացնող մանրէների աճի վրա: Տվյալները բերված են աղյուսակ 25-ում:

Ինչպես երևում է, տարբեր մետաբիոտիկներ տարբեր արդյունավետությամբ են ճնշում անջատված մանրէների աճը: Ըստ ընդունված մեթոդի հակաբիոտիկների ազդեցության 20մմ-ից բարձր արժեքն է համարվում արդյունավետ (2.8.5 նյութեր և մեթոդներ): Ելնելով դրանից ճնշման ամենից բարձր արդյունավետություն ուներ մետաբիոտիկը ստացված ՎՆՀ ***LAB sp.*****KG1**-ից**,** որը կազմում էր մոտավորապես 60%: Չնայած որ **LAB sp. KE3** ճնշում էր բոլոր մանրէների աճը, սակայն նրա արդյունավետությունը կազմում է մոտավորապես 15%: Կովի կաթի ԿԹԲ-ների ՎՆՀ ***Ent.durans*** **P13**-ը, ***Ent. faecium*** ցուցաբերել են ամենացածր արդյունավետություն:

Աղյուսակ 25.

Մետաբիոտիկների ազդեցությունը սննդամթերքը փչացնող մանրէների աճի վրա, Ø,մմ

№	Անջատման աղբյուր	Սնունդ փչացնող մանրէ	Մետաբիոտիկներ									
			LAB sp. KV1	*LAB sp.* KV2	*LAB sp* KG1	*Ent. durans* P13	*Ent. faecium* M14	*Lab sp.* KV15-2	*LAB sp.* KE1	*LAB sp.* KE3	*Ent. faecium* KA3	*L. helveticus* KG5
1	**Մսամթերք**	M-1	16±2	19±1	17±1	-	-	10±3	13±1	15±1	12±1	20±1
2		M -2	18±1	13±5	17±3	-	-	-	10±3	17±1	12±3	9±4
3		M -3	18±1	14±3	22±1	-	9±4	-	13±4	10±5	15±2	12±3
4		M -4	17±2	13±2	24±3	-	-	-	-	14±2	-	12±1
5		M -5	16±1	13±4	19±1	-	-	10±3	16±1	21±1	10±3	12±1
6		M -6	14±3	12±5	16±3	-	-	10±2	15±1	16±1	12±4	15±1
7		M -7	13±4	10±6	15±4	-	12±3	-	-	12±4	-	11±4
8		M -8	20±1	19±1	20±2	14±2	-	5±4	10±6	18±1	10±5	-
9		M -9	-	-	19±1	-	-	-	17±1	12±3	12±3	15±1
10		M -10	-	-	20±1	-	-	-	-	4±5	-	-
11		M -11	17±1	18±1	20±1		-	-	-	7±1	10±4	-
12	**Կաթնամթերք**	K-12	10±4	-	12±3	-	-	-	10±1	18±1	10±5	-
13		K-13	13±1	15±1	14±1	-	-	10±1	10±1	10±1	-	-
14		K-14	-	-	21±1	-		-	16±1	17±1	-	-
15		K-15	7±5		5±4	-	-	15±1	10±1	10±7	12±1	13±6
16	**Հյութ**	H-16	16±2	18±1	15±1	-	-	10±1	12±1	20±1	13±1	7±5
17		H-17	18±1	19±1	16±1		16±3	5±1	10±1	10±6	10±5	11±3
18		H-18	14±3	22±1	28±1	22±1	-	-	10±1	20±5	5±4	5±9
19		H-19	15±2	13±5	20±1	11±1	20±2	-	13±1	21±4	10±1	22±1
20	**Բուսական պահածո**	P-20	20±1	16±1	18±3	15±1	10±6	-	8±1	15±1	-	12±4
21		P-21	23±1	24±1	30±1	10±1	14±1	10±1	15±1	13±7	15±1	12±3
22		P-22	14±4	10±5	12±4	-	-	10±1	12±1	12±6	14±1	7±6
23		P-23	18±1	20±4	22±1	18±1		-	13±1	10±1	-	-
24		P-24	14±5	16±1	20±1	-	-	10±1	14±1	10±2	10±1	-
25		P-25	10±6	-	-	-	-	15±1	17±1	11±3	8±6	-
26		P-26	11±3	11±2	12±1	-	-	-	15±1	11±5	7±4	-
27		P-27	16±1	14±1	20±1	-	-	-	-	11±4	12±1	9±4
Միջին, %			11±5		59±10					15±5		

Նախկինում ցույց է տրվել, որ պրոբիոտիկ Lactobacillus ցեղի շտամներից ստացված հակամանրէային պատրաստուկները կիրառվել են մշակված հալած պանրի արտադրությունում: Այդ նպատակով հետազոտվող պատրաստուկները ավելացվել են համասեռ պանրի զանգվածին (հոմոգենիզացիա), 80-95^0 C^0, 30 րոպե: Գնահատվել են ընդհանուր աղտոտվածությունը 30, 60, 90 օրերի ընթացքում +4^{0}C պահպանման պայմաններում: Հալած պանրի նմուշների չեն ենթարկվել փչացման 30 օրվա պահպանման ընթացքում ի տարբերություն ստուգիչ նմուշների: Ստացված հակամանրէային պատրաստուկները տարբեր կերպ են ազդում պանիր, աղացած միս, տարբեր երշիկեղեն և մրգայի հյութեր փչացնող մանրէների աճի վրա: Աճի ճնշման արդյունավետությունը կազմում էր 3- 4 lg10 ի համեմատ ստուգիչ նմուշների [3]:

Թռչնամսի Salmonella ցեղի բակտերիաների քանակը կրճատելու համար, 5 օրական ճտերին մեկ շաբաթ խմելու ջրի հետ հակաբիոտիկի փոխարեն տվել են որոշակի խտությամբ ստացված հակամանրէային պատրաստուկը: Ցույց է տրվել, որ հավի ճտերը չեն հիվանդացել սալմոնելյոզով, նվազել անկման աստիճանը և աճել թռչունների քաշը: Հավի մսերը չեն պարունակել ախտածին մանրէներ [5]:

Ելնելով մեր ստացված տվյալներից երևում է, որ այլ ընտանի կենդանիների կաթից ստացված ՎՆՀ-ի մետաբիոտիկները օժտված են ավելի բարձր արդյունավետությամբ ճնշելու պայմանական ախտածին մանրէների աճը, քան մետաբիոտիկները, որոնք ստացվել են կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ԿՀ-ից: Կարելի է ենթադրել, որ ընտրված մետաբիոտիկները, որոնք ցուցաբերում են բարձր արդյունավետություն, ինչպես օրինակ ***LAB sp.*** **KG1** մետաբիոտիկը կարող է կիրառվել սննդամթերքների կենսապահպանման համար:

5.3. ՀՀ-ի և ԱՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների համեմատական բնութագիրը

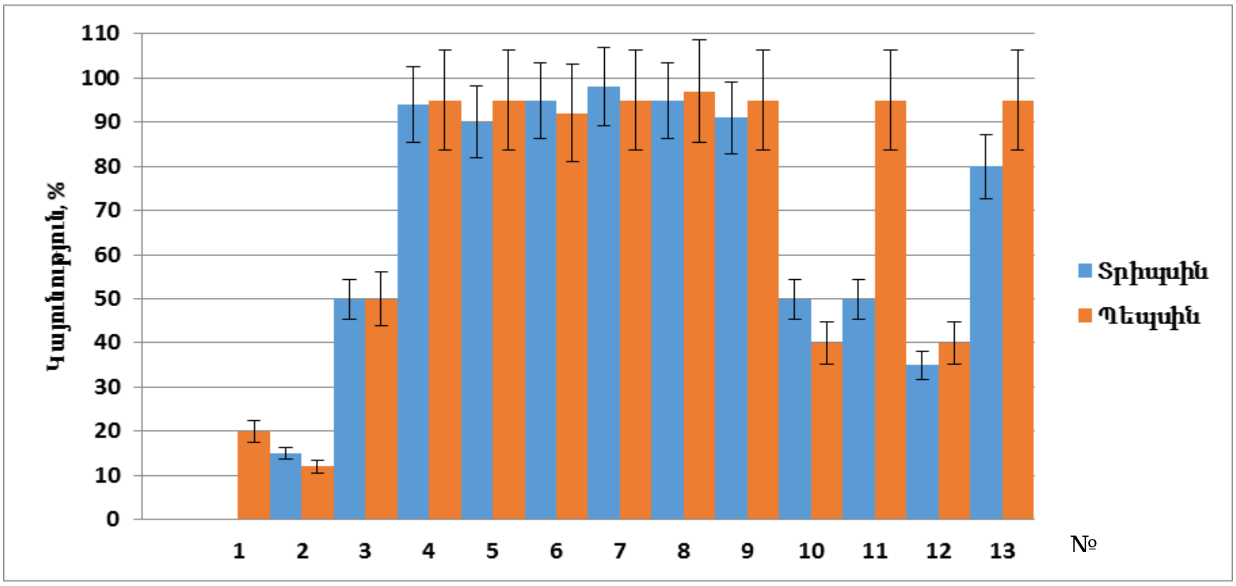
Որոշակի գիտական հետազոտությունների ուշադրության կենտրոնում են գտնվում տարբեր ընտանի կենդանիների, մանավանդ այծի և ավանակի կաթից անջատված մանրէների ուսումնասիրությունները, քանի որ այդ կաթերը ունեն բուժիչ նշանակություն [85,81]:

Մեր կողմից ստացված տվյալները ցույց են տալիս (նայիր գլուխ 3), որ Արցախի ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէների ցեղային և տեսակային կազմը տարբերվում է կովի կաթից անջատված մանրէներից, իրենց պրոբիոտիկ հատկություններով և մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությամբ: Այդ հատկությունները ավելի բարձր դրսևորված են ավանակի կաթից անջատված մանրէների մոտ:

Ելնելով դրանից համեմատել ենք ԱՀ տարբեր շրջանների վայրի ծագմամբ **ավանակի** կաթից անջատված 10 ԿԹԲ-ներ ***(LAB*** **sp. KE1,** ***LAB*** **sp. KE2,** ***LAB*** **sp. KE3,** ***LAB*** **sp. KE4,** ***LAB*** **sp. KE5,** ***LAB*** **sp. KE6,** ***LAB*** **sp.KE7,** ***LAB*** **sp. KE8,** ***LAB*** **sp. KE9,** ***LAB*** **sp. KE10**) ՀՀ-ի տարբեր շրջանների ավանակի կաթից անջատված 3 ԿԹԲ-ների (***LAB*** **sp. AE3,** ***LAB*** **sp. AE5,** ***LAB*** **sp. AE9**) հետ: Այդ մանրէները վերցրվել է ՀՀ ԳԱԱ Հայկենսատեխնոլոգիա ԳԱԿ մանրէների հավաքածուից: Ուսումնասիրել ենք ԿԹԲ-ների կայունությունը պեպսին և տրիպսին ֆերմենտների նկատմամբ: Նկար 8-ում բերված են ուսումնասիրվող մանրէների համեմատական կայունությունը տրիպսին և պեպսին ֆերմենտների նկատմամբ:

Ինչպես երևում է բերված տվյալներից ՀՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների միայն № 3 **LAB sp. AE9** է կայուն ֆերմենտների նկատմամբ 50%, մինչդեռ Արցախի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների միայն 2՝ № 10 **LAB sp. KE7** և № 12- **LAB sp. KE9** ցուցաբերում են մոտավորապես 40-50% կայունություն: Մնացած ուսումնասիրվող 8 շտամները ցուցաբերում են 50% բարձր կայունություն տրիպսին և պեպսին ֆերմենտների նկատմամբ:

Բերված տվյալները ցույց են տալիս, որ ՀՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները ավելի զգայուն են աղեստամոքսային ուղու ֆերմենտների նկատմամբ, քան Արցախի տարբեր շրջանների ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները:

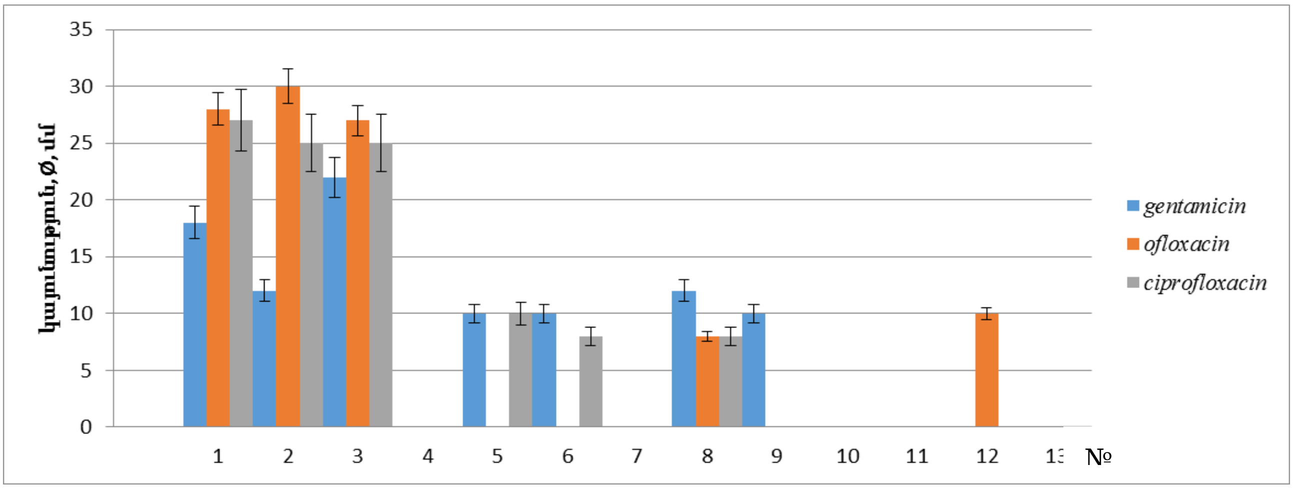


Նկար 8. ԿԹԲ-ների կայունությունը ֆերմենտների նկատմամբ

ՀՀ №1- LAB sp. AE3, №2- LAB sp. AE5, №3- LAB sp. AE*9*,

ԱՀ №4- LAB sp. KE1, №5- LAB sp. KE2, №6- LAB sp. KE3, №7- LAB sp. KE4, №8- LAB sp. KE5, №9- LAB sp. KE6, №10- LAB sp. KE7, № 11- LAB sp. KE8, №12- LAB sp. KE9, №13- LAB sp. KE10

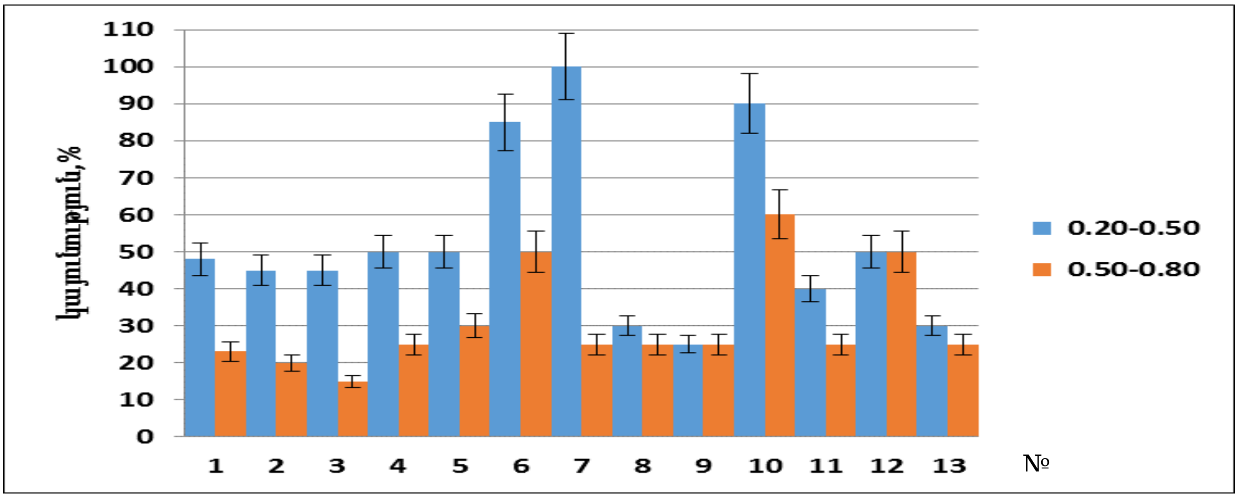
Նկար 9-ում բերված է ուսումնասիրվող ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ: Օգտագործվել են բժշկության մեջ առավել հաճախ կիրառվող հակաբիոտիկ-սկավառակները (գենտամիցին – 120 մգ, օֆլոկսացին – 5 մգ, ցիպրոֆլոքսացին - 5 մգ): Ինչպես երևում է բերված տվյալներից № 4 **LAB sp. KE**1, № 7 **LAB sp. KE4**, № 10 **LAB sp. KE7**, № 11 **LAB sp. KE8**, №13 **LAB sp. KE10** կայուն են ուսումնասիրվող հակաբիոտիկների նկատմամբ, այն դեպքում երբ №1 **LAB sp. AE3**, №2 **LAB sp. AE5**, №3 **LABsp. AE9**, աճը ճնշվում է հետազոտվող հակաբիոտիկների կողմից, իսկ ԱՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների աճը չի ճնշվում հետազոտվող հակաբիոտիկների ազդեցությամբ: Դա կարելի է հիմնավորել անթրոպոգեն գործոնի քիչ ազդեցությամբ: Գնահատելով ստացված տվյալները երևում է, ՀՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները ավելի զգայուն են հակաբիոտիկների նկատմամբ, քան ԱՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները:



Նկար 9. ԿԹԲ-ների կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ

ՀՀ №1- **LAB sp. AE3**, №2- **LAB sp. AE5**, №3- **LAB sp. AE9**,
ԱՀ №4- **LAB sp. KE1**, №5- **LAB sp.KE2, №6- LAB sp. KE3, №7- LAB sp. KE4, №8- LAB sp. KE5, №9- LAB sp. KE6, №10- LAB sp. KE7**, № 11- **LAB sp. KE8**, №12- **LAB sp. KE9**, №13- **LAB sp. KE10**

Ուսումնասիրվել է նաև լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների համեմատական կայունությունն է:



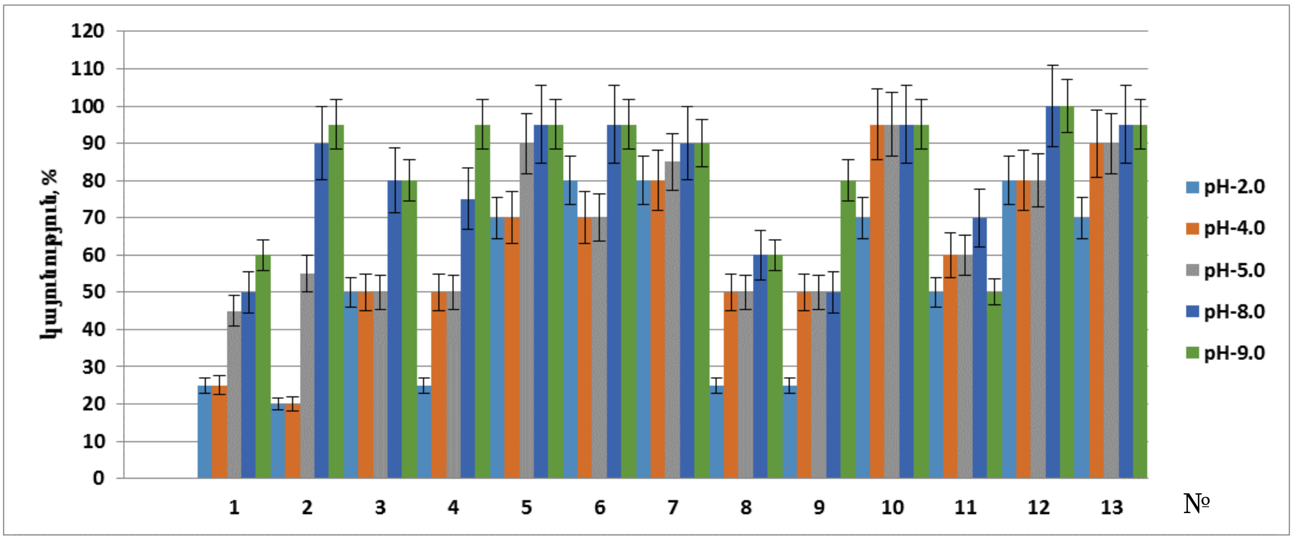
Նկար 10. ԿԹԲ-ների կայունությունը լեղու նկատմամբ

ՀՀ №1- LAB sp. AE3, №2- LAB sp. AE5, №3- LAB sp. AE*9*,
ԱՀ №4- LAB sp. KE1, №5- LAB sp. KE2, №6- LAB sp. KE3, №7- LAB sp. KE4, №8- LAB sp. KE5, №9- LAB sp. KE6, №10- LAB sp. KE7, № 11- LAB sp. KE8, №12- LAB sp. KE9, №13- LAB sp. KE10

Բերված համեմատական տվյալները (նկար 10) ցույց են տալիս, որ ՀՀ ավանակի կաթի ԿԹԲ-ների կայունություն տատանվում է 35-50%, իսկ ԱՀ-ի ԿԹԲ-ներից №6 **LAB**

sp. KE3, №7 LAB sp. KE4, №10 LAB sp. KE7 մանրէները 90%-ով կայուն է լեղու 0.2-0.5 տիրույթներում:

Համեմատել ենք ՀՀ-ի և ԱՀ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը pH 2-9 տիրույթում: Հետազոտության ընթացքում պարզվել է, որ ԱՀ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները կայուն են pH լայն տիրույթում բացի №8-**LAB sp. KE5**, №9 **LAB sp. KE6**, №10 **LAB sp. KE7**, № 11 **LAB sp. KE8** ՀՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները ունեն տարբեր կայունություն (նկար 11):



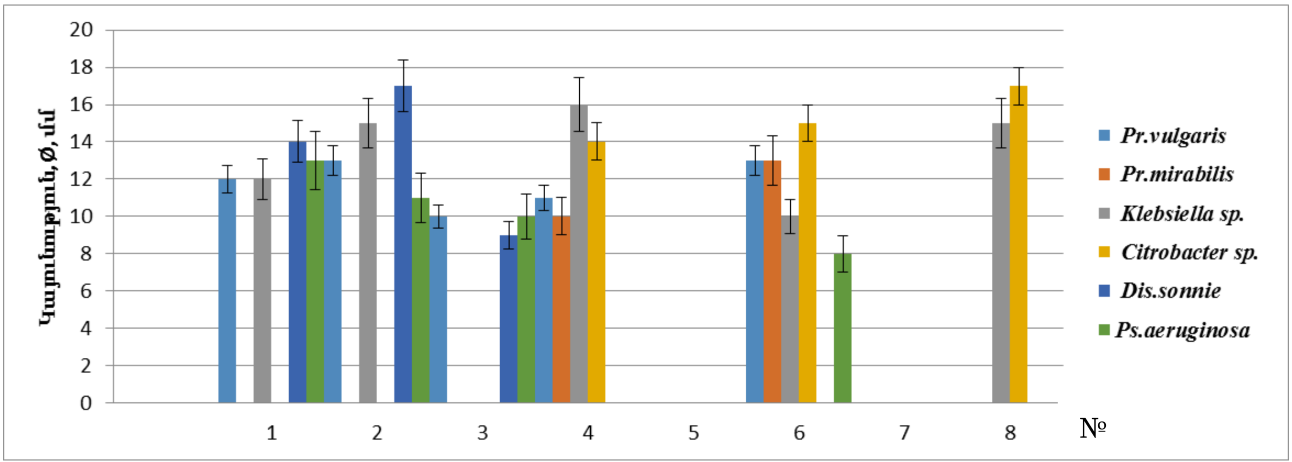
Նկար 11. ԿԹԲ-ների կայունությունը pH-ի տարբեր տիրույթում

ՀՀ №1- LAB sp. AE3, №2- LAB sp. AE5, №3- LAB sp. AE9,
ԱՀ №4- LAB sp. KE1, №5- LAB sp. KE2, №6- LAB sp. KE3, №7- LAB sp. KE4, №8- LAB sp. KE5, №9- LAB sp. KE6, №10- LAB sp. KE7, № 11- LAB sp. KE8, №12- LAB sp. KE9, №13- LAB sp. KE10

Պետք է նշել, որ հետազոտվող ավանակի ԿԹԲ-ների մեծ մասը ցուցաբերում են կայունություն pH-8-9 հիմնային տիրույթում: Ցույց է տրված, որ ՀՀ կովի կաթից անջատված մանրէների կենսունակությունը բարձր է թթվային տիրույթում [17,99,1]: Ավանակի կաթից անջատված մանրէների հատկությունների ուսումնասիրությունների ստացված տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ հետազոտվող ԿԹԲ-ները կարող են կիրառվել աղեստամոքսային ուղու ուղիղ բաժնում՝ բուժկանխարգելիչ նպատակով:

Այսպիսով, ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ ԱՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները հեռանկարային են հետագա ուսումնասիրության և կիրառման համար:

Նկար 12-ում բերված է ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ներից ստացված մետաբիոտիկների հակամանրէային համեմատական ակտիվությունը հիվանդ մարդուց անջատված պայմանական ախտածին մանրէների նկատմամբ (ախտածին մանրէները նույնականացվել են բժիշկ-մանրէաբանների կողմից)։ Բերված տվյալներից երևում է, որ մետաբիոտիկներ №5 - **LAB sp. KE2** և №7 - **LAB sp. KE4** հակամանրէային ակտիվություն չեն դրսևորում ուսումնասիրվող ախտածին մանրէների աճի վրա: Մնացած մետաբիոտիկները ճնշում են ախտածին մանրէների աճը տարբեր արդյունավետությամբ՝ օգտագործելով միևնույն խտությունը (100մլ)։ Ուսումնասիրվող Klebsiella և Citrobacter ախտածին մանրէների աճը լավ էր ճնշվում №4 - **LAB sp. KE1**, №6 - **LAB sp. KE3**, №8 - **LAB sp. KE5** մետաբիոտիկների ազդեցությամբ։ Կարելի է ենթադրել, որ ավելացնելով մետաբիոտիկի խտությունը կարելի է ստանալ ավելի բարձր արդյունավետություն:



Նկար 12. Մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունը պայմանական ախտածին մանրէների դեմ, Ømm

ՀՀ №1- LAB sp. AE3, №2- LAB sp. AE5, №3- LAB sp. AE9,

ԱՀ №4- LAB sp. KE1, №5- LAB sp. KE2, №6- LAB sp. KE3, №7- LAB sp. KE4, №8- LAB sp.KE5, №9- LAB sp. KE6, №10- LAB sp. KE7, № 11- LAB sp. KE8, №12- LAB sp. KE9, №13- LAB sp. KE10

Այսպիսով, ՀՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկները ի տարբերություն ԱՀ-ի ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մետաբիոտիկների տարբեր արդյունավետությամբ են ճնշում ախտածին մանրէների աճը:

ԱՀ էկոլոգոերկրաքիմիական մեկուսացվածությունը, աշխարհագրական դիրքը, անթրոպոգեն գործոնի ոչ մեծ ազդեցությունը նպաստել են այստեղ ձևավորվելու էնդեմիկ մանրէներ, որոնք կարող են հեռանկարային լինեն և օգտագործվել նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերք պատրաստելու համար: ԿԹԲ-ների ԿՀ-ներից ստացված որոշ մետաբիոտիկները կարող են օգտագործվել որպես այլ ընտրանքային միջոցներ հակաբիոտիկների փոխարեն:

Աղյուսակ 26-ում բերված են ուսումնասիրվող ընտանի կենդանիների կաթից անջատված 98 մանրէների ամփոփված պրոբիոտիկ հատկությունները, իսկ աղյուսակ 27-ում՝ ընտրված մանրէների ամփոփված պրոբիոտիկ հատկությունները:

Աղյուսակ 26.

Անջատված ԿԹԲ-ների ընդհանուր պրոբիոտիկ հատկությունները, %

Հատկությունները	Անջատման աղբյուր				
	Կաթ				
	կովի	այծի	գոմեշի	ոչխարի	ավանակի
	ԿԹԲ				
Կայունությունը ֆերմենտների նկատմամբ	37±10	70±10	55±15	50±15	70±10
Կայունությունը լեղու նկատմամբ	54±15	40±15	35±16	60±15	65±15
Կայունությունը pH-ի նկատմամբ	40±14	45±15	55±10	55±10	60±10
Հակաօքսիդանտային ակտիվություն	45±11	76±10	54±10	66±12	50±15
Պրոտեոլիտիկ ակտիվություն	60±15	95±10	-	-	25±17
Կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ	58±20	75±15	78±13	80±10	95±10
Ադհեզիվ հատկություն	70±13	55±15	42±15	66±10	50±10
Հակամանրէային ակտիվություն	65±15	72±18	75±15	87±12	95±10

Այսպիսով, վերլուծելով ընտրված ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունները՝ ընտրել ենք տարբեր կաթի նմուշներից անջատված՝ ***L. helveticus*** **KG5,** ***Ent. faecium*** **KV15-1,** ***Ent. faecium*** **KA3,** ***Ent. faecium*** **KAP1, LAB sp. KG-1, LAB sp. KV15-2,** ***Ent. faecium*** **KE5,** ***Ent. faecium*** **KE9,** ***Ent. durans*** **KE6,** ***Ent. durans*** **KE10** ԿԹԲ-ների շտամները, որոնք ցուցաբերում են տարբեր պրոբիոտիկ հատկություններ և սինթեզում են տարբեր մետաբիոտիկներ, որոնք կարող են մեծ կիրառում ունենալ տարբեր ոլորտներում:

Սինթեզվող տարբեր մետաբիոտիկները այսօր ներկայացնում են մեծ հետաքրքրություն: Մետաբիոտիկները լինելով նյութափոխանակության արգասիքներ արդեն իսկ պարունակում են բնական միկրոֆլորայի ակտիվ մետաբոլիտներ: Աղիների մեջ ներթափանցելուց հետո նրանք սկսում են գործել անմիջապես, չպահանջելով ակտիվանալու համար ավելորդ ժամանակ: Ըստ վերջին տվյալների առավել արդիական է համարվում էնտերոկոկերի՝ Enterococcus ցեղ, օգտագործումը դիսբակտերիոզի բուժման ժամանակ [17, 45]:

Աղյուսակ 27.

Ընտրված ԿԹԲ-ների ընդհանուր պրոբիոտիկ հատկությունները,%

Հատկությունները	ԿԹԲ											
	L. helveticus KG5	*Ent. faecium* KA3	*Ent. faecium* KV15-1	*Ent. faecium* KAP1	*LAB sp.* KG1	*LAB sp.* KV15-2	*LAB sp.* KE1	*LAB sp.* KE3	*Ent. faecium.* KE5	*Ent. faecium* KE9	*Ent. durans* KE6	*Ent. durans* KE10
Կայունությունը ֆերմենտների նկատմամբ	70	70	30	80	50	30	60	100	100	60	99	80
Կայունությունը լեղու Նկատմամբ	60	83	63	38	60	65	60	70	50	65	75	40
Կայունությունը pH-ի Նկատմամբ	65	80	50	60	50	50	50	80	70	80	80	80
Հակաօքսիդանտային Ակտիվություն	54	91	35	74	60	39	13	14	73	71	65	39
Կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ	60	80	80	60	60	80	90	90	99	99	99	99
Ադհեզիվ հատկություն	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
Հակամանրէային ակտիվություն	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ջերմակայունություն	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

«+» ակտիվության առկայություն

Այսօր հայտնի է, որ Enterococcus ցեղին պատկանող մանէները ճնշում են *Heliobacter pylori* մանրէի աճը և ունեն սիմբիոտիկ փոխհարաբերություններ *Lactobacillus, Lactococcus* և *Bifidobacterium* ցեղի ներկայացուցիչների հետ [24]: Enterococcus ցեղի պրոբիոտիկ մանրէները լայն կիրառում են գտնում նոր կաթնամթերքների արտադրությունում:

Կարելի է եզրակացնել, որ մեր կողմից տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված և հետազոտված Enterococcus ցեղի մանրէները կարող են հիմք հանդիսանալ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար, իսկ մետաբիոտիկները՝ կենսապահածոյացման և բժշկության մեջ:

ԳԼՈՒԽ 6. ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ԸՆՏՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՖՈՒՆԿՑԻՈՆԱԼ ՍՆՆԴԱՄԹԵՐՔ ՍՏԱՆԱԼՈՒ ՀԱՄԱՐ

Նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերք ստանալու համար, անհրաժեշտ է, որպեսզի մերանային շտամներն օժտված լինեն պրոբիոտիկ հատկություններով: Սակայն պակաս կարևոր չեն նաև տեխնոլոգիական ցուցանիշները՝ մերման ժամանակը, թթվայնությունը, օրգանոլեպտիկ հատկությունները: Ցույց է տրված, որ մեծ կիրառում ունեն *L. acidophillus, L.gasseri, L.helveticus, L.johnsonii, L.(para)casei, L.reuteri, L.plantarum, L.rhamnosus* և *L.fermentum* տեսակները, ինչպես նաև *Bifidobacterium bifidum, B.longum, B.animalis* և *B.breve* ցեղի ներկայացուցիչները [96]: Պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ները որպես մերաններ կարող են օգտագործվել ֆունկցիոնալ սննդի արտադրության համար:

Ներկայումս նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերք ստանալու համար ավելի արդիական է մեկից ավելի պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ների օգտագործումը: Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները համատեղ աճելու ընթացքում կարող են ցուցաբերել սիներգիզմի և անտոգոնիզմի փոխհարաբերություններ: Ելնելով դրանից հնարավոր է փոփոխության ենթարկվի տեխնոլոգիական պարամետրերի ցուցանիշները:

Ներկայումս, պրոբիոտիկ արտադրանքների արտադրության մեջ լայնորեն կիրառվում են մի շարք պրոբիոտիկ շտամներից բաղկացած բարդ բաղադրիչ պատրաստուկներ: Պրոբիոտիկ Linex Forte-ն արդյունավետ է դիարեայի բուժման համար: Այն պարունակում է երկու տեսակի պրոբիոտիկ բակտերիաներ (*Lactobacillus* և *Bifidobacterium* ընտանիքներին պատկանող), որոնք գաղութացնում են ամբողջ աղիքային համակարգը: Linex Forte-ի առավելությունը մյուս պրոբիոտիկների նկատմամբ այն է, որ այն հանդիսանում է որպես դեղորայքային արտադրանք: iFlora Multi-Probiotic (Sedona Labs) պարունակում է 32 միլիարդ ԳԱՄ, որը բաղկացած է 16 տարբեր պրոբիոտիկների խառնուրդից՝ *Bifidobacterium bifidum, B.breve, B.lactis (infantis), B.lactis HN019, B.longum, Lactobacillus acidophilus, L.brevis, L.bulgaricus, L.casei, L.gasseri, L.paracasei, L.plantarum, L.rhamnosus, L.salivarius, L.lactis, Str.thermophillus*, և կարճ ֆրուկտոօլիգոշաքարայի շղթայից: Multi-Probiotic 4000 պատիճները պարունակում են ավելի քան չորս միլիարդ օգտակար մանրէներ ինչպես *Lactobacillus*, այնպես էլ *Bifidobacterium* ցեղի ներկայացուցիչների, որոնք խառնվում են պրեբիոտիկ ֆրուկտոօլիգոշաքարի հետ և կարող են հանդես գալ, որպես օգտակար դիետիկ հավելումներ նրանց համար: Dong Quai-ն նորագույն պրոբիոտիկ խմիչքներից մեկն է, որը բաղկացած լինելով բացի *L.acidophilus, L.delbreukii, Saccharomyces boulardii, Saccharomyces cerevisiae* չորս ակտիվ մանրէներից, հայտնի է իր հորմոնային կայունացուցիչ հատկություններով: Ներկայումս միջազգային շուկայում ամենից հայտնի մետաբիոտիկը «Hylak Forte» է (Ratiopharm / Merckle, Գերմանիա): Այս հեղուկ դեղամիջոցը պարունակում է *Escherichia coli* DSM 4087, *Streptococcus faecalis* DSM 4086, *Lactobacillus acidophilus* DSM 4149, և *L.helveticus* DSM 4183-ի մետաբոլիտներ:

Հայաստանի Հանրապետությունում 1964 թ. հայ գիտնական Լ. Երզնկյանի կողմից անջատվել է *Lactobacillus acidophilus* n.v. Ep 317/402, որն օգտագործվում է ֆունկցիոնալ սննդի արտադրության համար (ԽՍՀՄ արտոնագրի վկայագիր, թիվ 163573, 1964): «Նարինե» կաթնամթերքում պարունակվող *Lactobacillus acidophilus* բակտերիայի բուժիչ հատկությունները հաստատվել են Հայաստանում, Ռուսաստանում, Ուկրաինայում, Լատվիայում, Մոլդովայում և Ճապոնիայում: Ավելին, ճապոնական գիտնականները («Miki corporation» ընկերություն, Օսակա, Ճապոնիա) պարզել են, որ «Նարինե» կաթնամթերքի մեջ պարունակող մանրէն նպաստում է ալֆա- բետա- և, մասնավորապես, գամմա-ինտերֆերոնի արտադրության բարձրացմանը, բարձրացնելով մարդու օրգանիզմի դիմադրողականությունը: Ներկայումս «Նարինե» ապրանքը լայնորեն օգտագործվում է նորածինների դիսբակտերիոզի բուժման համար [32]: «Նարինե» կաթնամթերքը մոնոկոմպոնենտ է, որը պարունակում է *Lactobacillus acidophilus* n.v. Ep 317/402 շտամը:

Մեր կողմից առաջին անգամ փորձ է դրվել համատեղ աճեցնել տարբեր ցեղի մանրէները, որոնք անջատվել են տարբեր կենդանիների կաթից: Կազմվել են 20-ից ավելի համակցություններ: Աղյուսակ 28-ում բերված են լավագույն ստեղծված համակցությունների աճեցման ցուցանիշները և օրգանոլեպտիկ գնահատականը: Հետազոտության համար ընտրվել է ***Ent.durans*** **P13** մանրէն, որը անջատվել է կովի պանրից և ունի հաճելի համ և օժտված է պրոբիոտիկ հատկություններով [1]: Ինչպես երևում է ամենից բարձր ցուցանիշը ըստ մանրէների քանակության ունի №2-ը համակցությունը (***Ent.durans* P13 և *Ent. faecium* KA3**): Աղյուսակի տվյալներից երևում է, որ 5 ժամվա մերման ժամանակ թթվայնությունը համակցությունների մոտ տարբեր է, նվազագույնը՝ 110, առավելագույնը 125: Պրոբիոտիկ մանրէներով հարստացված կաթնամթերքում մանրէների քանակը պետք է լինի ոչ պակաս 10^7 ԳԱՄ/մլ: Տվյալներից երևում է, որ համակցություններում մանրէների քանակը կազմում է 10^8 ԳԱՄ/մլ 5-6 ժամում:

Աղյուսակ 28.

Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների համակցությունների աճեցումը (անարատ կաթ, 42°C)

№	ԿԹԲ	Մերման ցուցանիշներ ժամ	°T	ԳԱՄ/մլ	Օրգանոլեպտիկ գնահատականը	
1.	***Ent.durans* P13** ***L. helveticus* KG5**	5.0±0.5	110±20	$3x10^8$ $4x10^8$	29	Քաղցր, Համով
2.	***Ent. durans* P13** ***Ent. faecium* KA3**	5.0±0.2	110±10	$4x10^9$ $6x10^9$	26	Մածնատիպի
3.	***Ent.durans* P13** ***LAB sp.* KE1**	6.0±0.5	125±20	$3.5x10^8$ $3.5x10^8$	27	Թթվաշ
4.	***Ent.durans* P13** ***Ent. faecium* KV15-1**	6.0±0.2	120±20	$2x10^8$ $1.2x10^8$	25	Մածնատիպի

Օրգանոլեպտիկ գնահատականը տրվել է համաձայն ԳՕՍՏ 4959-ի (ՀՀ): Քանակական համակարգում գնահատականը տալու համար յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ բազմապատկվել է գործակցի նշանակության աստիճանային ցուցանիշով: Այսպիսով ֆունկցիոնալ սնունդ ստանալու համար մեր կողմից առաջարկվել է օգտագործել բարձր պրոբիոտիկ հատկություններով մանրէների (***Ent.durans* P13** և ***L.helveticus* KG5**) համակցությունը, որը ունի հաճելի համ ու հոտ:

«Արցախ Կաթ» ՓԲԸ ընկերությունում երկկողմանի համաձայնությամբ կատարվել են փորձարկումներ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերք ստանալու համար: Անց են կացվել 5 տեխնոլոգիական գործընթացներ, օգտագործելով ***Ent.durans*** **P13** և ***L.helveticus*** **KG5** համակցություններով մեր կողմից պատրաստված կաթնաթթվային մերանը: Հաստատված է, որ 1 տ արտադրանքի համար պետք է օգտագործել 3 լ այս համակցություններով ստեղծված մերանը: Մերանի աճեցումը կատարվել է 4-5 ժամ: Արձանագրվել են համապատասխան փաստաթղթեր: Ստացված պրոբիոտիկ կաթնամթերքը անվանվել է Արցախլակտ, որը ունի N AST –A 01.A-0479-2017 համապատասխան վկայական (հավելված 2) և ԱՀ ՏՊ 90025478.01 96-2017թ. տեխնիկական պայմանները (հավելված 3):

Նկար 13.«Արցախլակտ» պրոբիոտիկ կաթնամթերք

Այսպիսով, մեր կողմից առաջին անգամ մերան է ստեղծվել գոմեշի և կովի կաթից անջատված տարբեր ցեղերի մանրէների հիման վրա, որն էլ ներդրվել է արտադրության մեջ:

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Առաջին անգամ Արցախի տարբեր շրջանների տնային տնտեսությունների տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, ավանակ, գոմեշ) կաթի նմուշներից (128) անջատել ենք 98 ԿԹԲ-ների շտամներ: ԿԹԲ-ները հիմնականում ներկայացված են եղել մեզոֆիլ (60%) և թերմոֆիլ (40%) տեսակներով: Գնդաձև և ցուպիկաձև մանրէների հարաբերությունը կազմել է 9:1, որը կարող է պայմանավորված լինել Արցախի կլիմայական պայմաններով:

Ընտրված ԿԹԲ-ները տարբերվում են իրենց պրոբիոտիկ հատկություններով՝ լեղու տարբեր խտությունների, pH լայն սպեկտրի, ֆերմենտների (պեպսին, տրիպսին) նկատմամբ կայունությամբ, հակաօքսիդանտային և ադհեզիվ ակտիվությունների առկայությամբ, հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունությամբ, հակաբիոտիկակայուն ախտածին միկրոֆլորայի, որոնք անջատված են հիվանդ մարդու միկրոֆլորայից, և սնունդ փչացնող մանրէների աճի ճնշման ընդունակությամբ: Բացահայտվել է հետազոտվող ԿԹԲ-ների տարբերությունը մի շարք հակաբիոտիկների և հիվանդներից մեկուսացված մի շարք հակաբիոտիկակայուն ախտածին մանրէների նկատմամբ: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ավանակի կաթից անջատված մանրէները որոշ պրոբիոտիկ հատկությամբ (օժտված են ադհեզիայով, հակաօքսիդանտությամբ և հակամանրէային ակտիվությամբ) էապես գերազանցում են տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված մանրէներին: 16S ՌՆԹ գենոտիպավորման մեթոդի միջոցով հնարավոր դարձավ պարզել, որ ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթից անջատված ԿԹԲ-ները հիմնականում պատկանում են Enterococcus ցեղին:

Ընտրված մանրէները սննդարար միջավայրի վրա աճեցնելուց հետո, ստացված ՎՆՀ-ները մաքրվել են ժել-ֆիլտրման (Sephadex G25) մեթոդով և ստացել հակամանրէային հատկությամբ օժտված մասնաբաժիններ՝ մետաբիոտիկներ: Ցույց է տրվել, որ մետաբիոտիկների քանակական ելքը կախված է շտամի տեսակային պատկանելիությունից և այն կենդանու տեսակից, որի կաթից անջատել ենք ԿԹԲ:

Ավանակի կաթից անջատված ***Ent. faecium*** **KE5** շտամը սինթեզում է ավելի շատ մետաբիոտիկներ, քան մնացած հետազոտվող շտամները:

Հետազոտվել է մետաբիոտիկների ելքը կախված աճեցման պայմաններից՝ սննդարար միջավայրի բաղադրությունից և աճման ջերմաստիճանից: Ցույց է տրվել ***LAB sp.*** **KE1**, ***LAB sp.*** **KE3*****, Ent. faecium*** **KE5,** ***LAB sp.*** **KG5** մանրէների մետաբիոտիկների սինթեզի կախվածությունը սննդարար միջավայրի բաղադրությունից: Ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների շտամների մետաբիոտիկների հակամանրէային ակտիվությունները տարբերվում են աճեցման ջերմաստիճանի պայմաններից:

Ցույց է տրվել, որ 121^{0}C 15 րոպե ջերմամշակումից հետո մետաբիոտիկները ունեն տարբեր կայունություն: Կայունությունը pH=6.0 և 121^{0}C 15 ջերմաստիճանի տակ վկայում է մետաբիոտիկների բաղադրության մեջ հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված սպիտակուցանման նյութի առկայության մասին: Ցույց է տրվել ախտածին մանրէների (*St.aureus, Ps. aeruginosa, Pr. mirabilis, Klebsiella, Pr. vulgaris, E. coli*) աճի ճնշման բարձր արդյունավետություն մետաբիոտիկների կողմից, որոնք անջատվել են տարբեր ընտանի կենդանիների կաթի ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ից ի տարբերություն կովի կաթից անջատված բակտերիաների մետաբիոտիկների: Աճի կասեցման արդյունավետությունը կախված է նաև ախտածին մանրէի անջատման աղբյուրից:

Ստացվել են տվյալներ, որոնք վկայում են, որ ***Ent. faecium*** **KAP1** և ***L.helveticus*** **KG5** շտամների մետաբիոտիկները կարելի է փոխարինել հակաբիոտիկներ ցեֆալոտինին, նալիդիկաթթվին, աուգմենտինին, ցիպրոֆլոքսատինին, լևոմիցիտինին հիվանդ մարդու մեզից և կղանքից անջատված *E.coli* ախտածին մանրէի աճի ճնշման համար, իսկ *St. aureus* շտամի ճնշման համար, հակաբիոտիկներ գենտամիցինին, ցեֆալոտինին, ցեֆուրոքսիմին, ցեֆազոլինին, ցիպրոֆլոքսացինին, ազիտրոմիցինին կարելի է փոխարինել **LAB sp. KV15-2** ԿԹԲ-ի մետաբիոտիկով:

Ent. faecium **KE5** շտամի պրոբիոտիկ հատկությունների առկայությունը՝ կայունությունը pH-ի լայն տիրույթներում, ադհեզիվ հատկությունը, հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունությունը, ախտածին հակաբիոտիկակայուն շտամերի աճի ճնշման բարձր արդյունավետությունը և այլն, թույլ են տալիս երաշխավորել տվյալ շտամի հեռանկարային լինելու և ստամոքսաղիքային ուղու բուժկանխարգելման համար որպես պրոբիոտիկ օգտագործելու մասին:

Ent. faecium **KA3*,*** ***Ent. faecium*** **KE5*,*** ***Ent. faecium*** **KE6*,*** ***Ent. durans*** **KE10** շտամների կաթում համատեղ աճեցման բարձր պրոտեոլիտիկ և հակամանրէային ակտիվությունները թույլ են տալիս այս շտամները առաջարկել որպես մերաններ ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար: ***LAB sp.*** **KG1** ԿԹԲ-ի մետաբիոտիկի ընդունակությունը սնունդը փչացնող մանրէների աճի նկատմամբ, թույլ է տալիս առաջարկել նրա օգտագործումը մի շարք մթերքների կենսապահպանման համար:

Ent.durans **P13** և ***L. helveticus*** **KG5** շտամների համակցությունների գիտաարտադրական փորձարկումները ցույց են տվել բարձր տեխնոլոգիական ցուցանիշներ և օրգանոլեպտիկ հատկություններ:

Այսպիսով, Արցախի տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից ԿԹԲ-ների անջատումը և հետազոտումը, ինչպես նաև նրանց կողմից սինթեզված մետաբիոտիկների ուսումնասիրությունը (ախտածին մանրէների աճի ճնշման բարձր արդյունավետություն, պրոբիոտիկ հատկություններ) ցույց են տվել նրանց գերադասումը ի համեմատ նույն տարածաշրջանի կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների և նրանց մետաբիոտիկների:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ, ավանակ) կաթից անջատված որոշ կաթնաթթվային բակտերիաները օժտված են պրոբիոտիկ հատկություններով և տարբերվում են կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ներից:
2. Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ ավանակի կաթից անջատված ԿԹԲ-ները իրենց պրոբիոտիկ հատկություններով գերազանցում են տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ներին:
3. Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ ավանակի կաթից ԿԹԲ-ների ԿՆՀ-ի մասնակի մաքրումից հետո ստացված հակամանրէային մետաբիոտիկների մասնաբաժինների ելքը ավելի բարձր է, քան տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների մոտ:
4. Առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ անջատված մետաբիոտիկները տարբեր արդյունավետությամբ են ճնշում պայմանական ախտածին մանրէների աճը՝ կախված մետաբիոտիկների և ախտածին մանրէի տեսակից, անջատման աղբյուրից:

ԳԻՏԱԳՈՐԾՆԱԿԱՆ ԱՌԱՋԱՐԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Ավանակի և այծի կաթից անջատված ***Enterococcus faecium*** **KA3*,* *Enterococcus faecium*** **KE5*,* *Enterococcus faecium*** **KE6*,* *Enterococcus durans*** **KE10** շտամները, որոնք դրսևորում են պրոբիոտիկ հատկություններ, կարող են առաջարկվել որպես պրոբիոտիկ մերանային շտամներ՝ ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրման համար:
2. Այծի կաթից անջատված ***Enterococcus faecium*** **KA3** շտամը, որը ցուցաբերում է բարձր հակամանրէային և հակաօքսիդանտային ակտիվություն, կարող է կիրառվել սննդի կենսապահածոյացման համար:
3. Գոմեշի, ոչխարի և ավանակի կաթից անջատված ***Lactobacillus helveticus*** **KG5, *Enterococcus faecium*** **KE5*,* *Enterococcus faecium*** **KV15-1** շտամները, որոնք օժտված են ադհեզիվ հատկությամբ, կարող են կիրառվել աղեստամոքսային ուղու որոշ հիվանդությունների բուժման համար:
4. ***Enterococcus durans*** **P13 *և Lactobacillus helveticus*** **KG5** պրոբիոտիկ շտամներով համակցությունը կարող է օգտագործվել նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար:

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Առստամյան Լ. Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետության կաթից և կաթնամթերքներից կաթնաթթվային բակտերիաների անջատումը և ուսումնասիրությունը, ատենախոսություն, 2016թ.
2. ԳՕՍՏ 4959 (ՀՀ)
3. Կարախանյան Մ., Բեգլարյան Ռ., Տխրունի Ֆ., Բալաբեկյան Ծ., Համբարձումյան Հ. Հալած պանրի պատրաստման եղանակ // ՀՀ Արտոնագիր № 1403 A 2, 2004 թ.
4. Հարությունյան Ռ. Հակամանրէային կենսաարգասիքների ազդեցության ուսումնասիրությունը որոշ ախտածին մանրէների վրա, 2014թ.
5. Հարությունյան Ռ., Տխրունի Ֆ., Աղաջանյան Ա. Խոզերի և թռչունների աղիքային հիվանդությունների բուժում և/կամ կանխարգելում // ՀՀԱրտոնագիր №2378 A, 2010 թ.
6. ՀՀ Արտոնագիր 2015 թ.
7. Սաղյան Ա. ԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ, 2013թ. էջ 399
8. Абрамова Л. Фармакотерапевтический справочник ветеринарного врача, Ростов-на-Дону, Феникс 2003, 512 с.
9. Агаджанян А., Тхруни Ф.,Оганесян Г., Егиян К., Варданян А., Сагиян А. Выделение и очистка биоингибируюшего продукта из культуральных жидкостей // Биотехнология, 2015, № 3, ст. 32-40
10. Акопян Л. Биологические особенности молочнокислых бактерий Армении и сферы их использования. // Дисс. на докт. биол. наук, Ереван, 2007.
11. Берги Краткий определитель бактерии // издательство Мир, Москва 1980.
12. Биргер Р. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. М., 1990.
13. Бондаренко В., Лаврова В. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков //Микробиология, эпидемиология и иммунобиология, 1998, №5, с.107-112.

14. Бондаренко В., Воробьев А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией. // Микробиология. 2004, с. 84-92.

15. ГОСТ РФ 55577-2013. Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности.

16. Грудянов А., Дмитриева Н., Фоменко Е. Применение пробиотиков в комплексном лечении воспалительных заболеваний пародонта. Медицинское информационное агентство. Москва 2006, с. 22-43.

17. Ермоленко Е., Черныш А., Берлов М, Тотолян А., Суворов А. Антагонистическая активность энтерококков в отношении *Streptococcus pyogenes* // Вестник Санкт- Петербургского университета. Экспериментальная медицина, 2008, № 3, с. 137-144.

18. Запруднов А., Мазанкова Л. Микробная флора кишечника и пробиотики // Методическое пособие, М., 2001, с. 32.

19. Карапетян К. Сравнительное исследование свойств некоторых молочнокислых бактерий и получение антимикробных препаратов на их основе. Дисс. канд. Биол. наук, Ереван, 2010.

20. Красильников А. Микробиологический словарь-справочник, Москва, Наука, 1999, 400 с.

21. Нетрусов А. Практика по микробиологии, Москва, 2005

22. Салливан А., Норд К. Место пребиотиков в терапии инфекций желудочно-кишечного тракта у человека. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2003, Том 5, №3

23. Сирота Т. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы. Биомедицинская химия, 2013, том 59, вып. 4, с. 399-410.

24. Скородумова А. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. Москва, Издательство Наука, 1963, 211 с.

25. Степаненко П. Микробиология молока и молочных продуктов. // Учебник для студентов вузов, 1998.

26. Суворов А., Симаненко В. H.Pylori как возбудитель заболеваний желудочно-кишечного тракта // Генетика патогенности. Возможность эрадикации с использованием пробиотиков. Санкт-Петербург. 2014, 8 с.

27. Тараканов Б. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных // Фармакология и токсикология. 1999, Т. 3, № 4, 39-40 с.

28. Шендеров Б. Медицинская микробная экология и функциональное питание, Москва, 2001, Т.3, 288 с.

29. Шендеров Б. Медицинская микробиология и функциональное питание // Пробиотики и функциональное питание. Москва, 2001, Т.3, 286 с.

30. Шендеров Б., Доронин, А. Функциональное питание, 2002, 296 с.

31. Урсова Н. Актуальные проблемы и нерешенные проблемы пробиотикотерапии. 2013, №8, с. 60–65

32. Яковлев С. Устойчивость Pseudomonas aeruginosa к карбапенемам: уроки исследования MYSTIC // Фарматека., 2007, № 8/9

33. Adel M., Muna M. Probiotics and Traditional Fermented Foods: The Eternal Connection (Mini-Review) // Jordan Journal of Biological Sciences, 2010, Vol. 3, No 4, pp.133-140.

34. Afrikian E. Studies of lactic-acid bacteria in Armenia with emphasis on radio protective properties // Journal of Environmentalist, 2012, Vol. 32, pp. 256-268.

35. Akabanda F., Owusu-Kwarteng J., Glover R., Tano-Debrah K. Microbiological characteristics of Ghanaian traditional fermented milk product, *nunu* // Journal of Nature and Science, 2010, Vol. 8, pp. 178-187.

36. Andersson H., Asp N., Bruce A., Roos S., Wadstrom T., Wold A. Health effects of probiotics and prebiotics. - A literature review on human studies // Scandinavian J. Nutrition. 2001, Vol. 45, pp. 58-75.

37. Arstamyan L., Israyelyan A. Study of certain probiotic properties of endemic lactic acid bacteria from samples of matsun from the Republic of Nagorno Karabakh // International Scientific Workshop, 2014, p. 43

38. Avrelija C., Walter C. The role of functional foods, Nutraceuticals, and food supplements in intestinal health // Nutrients Journal, 2010, Vol. 2, pp. 611-625.

39. Appendini P., Hotchkiss J. Review of antimicrobial food packaging // Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 2002, Vol. 3, pp. 113-120.

40. Azadnia P., Khan Nazar A.H. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province // Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 2009, Vol. 10, pp. 235-240.

41. Barlow M. What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer // Horizontal Gene Transfer, 2009, pp.397-411

42. Batdorj B., Dalgalarrondo M. Purification and characterization of two bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag // Journal of Applied Microbiology. 2006, pp. 837-848

43. Behnsen J. Deriu E., Sassone-Corsi M., Raffatellu M. Probiotics: properties, examplex, and specific applications // Cold Sring Harbor Perspectives in Medicine, 2013, p. 3

44. Bettache G., Mebrouk K. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk // African Journal of Biotechnology, 2004, Vol. 3, pp. 339-342

45. Bhat Z., Bhat H. Milk and dairy products as functional foods: A review // International Journal of Dairy Science, 2011, Vol. 6, pp. 1-12.

46. Blum S., Reniero R., Schiffrin E. Adhesion studies for probiotics: need for validation and refinement // Trends Food Sci Technol. 1999, pp. 405-410.

47. Brul S. & Coote P. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms // Int. J. Food Microbiol. 1999, Vol. 50, pp. 1-6.

48. Bokulich N., Amiranashvili L., Chitchyan K., Ghazanchyan N., Darbinyan K., Gagelidze N., Sadunishvili T., Goginyan V., Kvesitadze G., Torok T., Mills D.

Microbial biogeography of the transnational fermented milk matsoni // Food Microbiology, 2015, pp.12-19.

49. Carr F., Chill D., Maida N. The lactic acid bacteria: a literature survey // Critical Reviews in Microbiology, 2002, Vol. 28, pp. 281-370.

50. Cavallarin L., Giribaldi M., Soto-Del Rio M., Valle E., Barbarino G., Gennero M., Civera T. A survey on the milk chemical and microbiological quality in dairy donkey farms located in North Western Italy // Food Control, 2014, Vol. 50, pp. 230-235.

51. Cintas L., Herranz C., Hernández P., Casaus M., Nes L. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria // Food Sci. Tech. Int., 2001, Vol 7, pp. 281-305.

52. Dimitrijemic R., Stojanovic M., Zivkovic I., Petersen A., Jankov R. The indentification of a low molecular mass bacteriocin, rhamnosin A, produced by *Lactobacillus rhamnosus strain* 68 // J of Applied Microbiology. 2009, Vol.6, pp. 2108-2115.

53. FAO/WHO. Working group on drafting guidelines for the evaluations of Probiotics in Food. London, Ontano, Canada, 2002, 30 Apr–1 May.

54. Fernandes P., Lopez P., Corbi A., Pelaez C., Requena T. Probiotic strains: survival under simulated gastrointestinal conditions, *in vitro* adhesion to Caco-2 cells and effect of cytokine secretion // Eur Food Res Technol. 2008, pp.1475-1484.

55. Fleming W. The review of natural products //1th edition USA, Facts and Comparisons, 2004, pp. 702-709.

56. Ganesh S. A novel yogurt product with *lactobacillus acidophilus* // Submitted a Thesis in University of Bharathidasan. India, 2006.

57. Gomes A. Malcata F. *Bifidobacterium spp.* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics // Trends Food Sci Technol. 1999, Vol. 10, pp.139-157.

58. Gonzalez-Rodriguez I., Ruiz L., Gueimonde M., Margolies A., Sanchez B. Factors involved in the colonization ang survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract // FEMS Microbiology Letters, 2013, pp.1-10.

59. Goossens H. Susceptibility of multi-drug-resistant Pseudomonas aeruginosa in intensive care units: results from the European MYSTIC study group // Clin Microbiol Infect, 2003, Vol. 9, pp. 980–983.

60. Guo H., Pang K., Zhang X. Composition, physiochemical properties, nitrogen fraction distribution, and amino acid profile of donkey milk // Journal of Dairy Science, 2007, Vol. *90,* pp. 1635-1643.

61. Ivanova I., Iliev I., Thomas H., Jean-Marc Chobert Editors. Food of Lactic Acid Bacteria. 2012.

62. Isolauri E. Dietary modification of atopic disease: use of probiotics in the prevention of atopic disease, Rep 2004, Vol. 4, pp. 270-275.

63. Karapetyan K., Huseynova N., Arutjunyan R., Tkhruni F., Haertle Th. Perspective of using new strains of lactic acid bacteria for biopreservation // J. Biotechnol. and Biotechnol. EQ, 2010, pp. 460-464.

64. Karimpur F. Study of Iranian traditional Fermented dairy Beverage «Richal» and Investigaiton of its Production Possibility. Diss of the Candidate of biological Sciences. 2014

65. Ken-ichi O., Takeshi Z., Shinya S., Tadayuki I., Akiko T., Satomi Y., Kenji S., Yoshimitsu M. Effects of Bacteriocins on Methicillin-Resistant *Staphilococcus aureus* Biofilm.Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2013, pp.5572-5579

66. Kimoto H., Kurisaki M., Tsuj I. Lactococci as probiotic strains: adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile // Lett Applied Microbiol. 1999, pp. 313-316.

67. Klaenhammer T. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria // Microbial Review, 1993, Vol. 1, pp. 39-86.

68. Kluytmans J., van Belkum A., Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks // *Clin. Microbiol. Rev.* 1997, Vol. 10, pp. 505–520

69. Leroy F., De Vuyst L. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, purification, and food applications // J. Mol .Microbiol. Biotechnol, 2007, pp. 194–199.

70. Lin M., Yen C. Antioxidative ability of lactic acid bacteria // J Agric Food Chem. 1999, pp.1460-1466.

71. Ljungh A., Wadstrom T. Lactic acid bacteria as probiotics // Curr issues intest Microbiol 2006, pp.73-89.

72. Mennane Z., Faid M., La gzouli M., Ouhssine M., Ely M., Chioui A., Berny E. Ennouali M., Khedid K. Physico-chemical, microbial and sensory characterization of Moroccan Klila middle-east // Journal of Scientific Research, 2007, Vol. 2., pp. 93-97.

73. Melik-Andreasyan G., Tkhruni F., Tsakanyan A., Karapetyan K., Khanjyan G., Khachatryan T. Evalution of antibiotic resistance of human gut microbiota pathogens // International scientific-practical conference " Modern problems of infectious pathology of human" October 31-November 1, Minsk, Belarus, 2013, Vol. 6, pp. 208-213.

74. Michetti P., Dorta G., Wiesel P.H. Effect of wheybesed culture supernatants of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans // Digestion 1999, Vol. 60, pp. 203-209.

75. Millar M., Wilks M., Costaloe K. Probiotics for preterm infants // Arch Dis Child Fetal Neonatal Eat, 2003, pp. 354-358.

76. Murray P., Rosenthal K., Pfaller M. Medical Microbiology, 2009

77. Nikkhan A. Equidae milk promises substitutes for cow and human breast milk // Turk .1 Vet Anim Sci Tnbitak, 2012, vol.5, pp. 470-475.

78. O'hara C., Brenner F., Miller J. Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia and Morganella // Clin Microbiol Rev. 2000, Vol. 4, pp. 534-546

79. Oppegard C., Fimland G., Anonsen J., Nissen-Meyer J. The Pediocin PA-1 Accessory Protein Ensures Correct Disulfide Bond Formation in the Antimicrobial Peptide Pediocin PA-1 // American Chemical Society, 2015, Vol. 54, pp. 2967-2974

80. Parada J., Caron C., Medeiros A., Soccol C. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives // Brazilian Archives of Biology and Technology, 2007, Vol. 50, pp. 521-542

81. Partente E., Brienza C., Moles M., Riccardi A. A comparison of methods for measurement of bactriocin activity // Journal of Microbiology Methods. 1995, Vol.22, pp. 95-108.

82. Perdigon G., Fuller R., Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system // Curr.Issues Intest.Microbiol. 2001, Vol. 2, №1, P. 27–42.

83. Piard J., Desmazeaud M. Inhibiting factors prodused by lactic acid 2 bacteriocins and other antibacterial substance. Lait, 1992, Vol. 72, pp. 113-142.

84. Randazzo C., Restuccia C., Mancini A., Muccilli S., Gatti M., Caggia C. Ragusana Donkey Milk as a Source of Lactic Acid Bacteria and Yeast Strains of Dairy Technological Interest // International Journal of Dairy Science & Processing, 2016.

85. Reid G. Regulatory and clinical aspects of milk products fermented by Bifidobacterium longum on blood lipidsin healthy adult male volunteers // J Dairy science 2003, 7, pp.2452-2461.

86. Rodriguez J., Martinez M., Kok J. Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria // Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 2002, Vol. 42, pp. 91-121.

87. Ross P., Morgan S.&Hill C. Preservation and fermatation: past, present and future // International Journal of food Microbiology. 2002, Vol. 25, pp. 2579-2586.

88. Salimei E., Fantuz F. Composition and characteristics of composition ass's milk // Anim.res., 2004, Vol. 53, pp.67-78.

89. Salminen S., Boutron Ruault M. Functional food science and gastrointestinal physiology and function // Br J Nutr 1998Vol 80, pp. 147-171.

90. Samelis J., Maurogenakis F., Metaxopoulos J. Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally fermented Greek dry salami // American Meat Science Association, 1994, Vol. 23, pp. 179-196.

91. Shenderov B. Metabiotics: Novel idea or natural development of probiotic conception // J. Microbiological ecology in Health and Desease, 2013, Vol. 24, pp. 1-6.

92. Simmering S., Blaut M. Pro- and prebiotics-the tasty guardian angels // Appl. Microbiol Biotechnol 2001.vol 55, pp.19-28.

93. Simpson O., Jadamus A., Vahjen W. Probiotic feed additives – effectiveness and expected modes of action // Journal of Animal and Feed Sciences. 2001., Vol. 10, pp. 51–67.

94. Stern N., Eruslanov B., Pokhilenko V., Kovalev Y., Volodina L., Perelygin V., Mitsevich E. Bacteriocins reduce Campylobacter jejuni colonization while bacteria producing bacteriocins are ineffective // Microbial Ecology in Health and Disease, 2008, Vol 20, pp. 74-79.

95. Svetoch E., Eruslanov B. Kovalev Y., Mitsevich E., Mitsevich I., Levchum V., Fursova N., Perelygin V., Stepanshin Y., Teymurasov M., Sael B., Stern N. Antimicrobial Activities of Bacteriocins E 50-52 and B 602 Against Antibiotic-Resistant Strains Involved in Nosocomial Infections // Probiotics & Antimicro. Prot. 2009, pp.136-142.

96. Tajabadi E., Hejaazi M., Jafari P. Selective screening of potential probiotic lactobacilli in traditional fermentative dairies // The Quarterly Journal of Biological Sciences, 2009,Vol. 1., pp. 41-47

97. Tamime R., Robinson K. Yoghurt science and Technology, 1998.

98. Terzic-Michèle Dalgalarrondo A., Tolinacki M., Nikolic M., Lozo J., Begovic J., Gulahmadov S., Alekperovich Kuliev A., Chobert J., Haertlé T., Topisirovic L. Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products // African Journal of Biotechnology, 2009, Vol. 8, pp. 2576-2588.

99. Tkhruni F., Karapetyan K., Danova S., Dimova S., Karimpur F. Probiotic properties of endemic strains of lactic acid bacteria // J.BioSci.Biotech., 2013, Vol.2, pp.1-6.

100. Tkhruni F., Balabekyan Ts., Karapetyan K., Yakimovich N., Arstamyan L. Antibacterial activity of single cells in the population of lactic acid bacteria // European Journal of Biomedical and Life Sciences. Vol. 3, 2015, pp. 76-80.

101. Todorov S., Onno B., Sorokine O. Detection and characterization of a novel antibacterial substance prodused by *Lactobacillus plantarum ST* 31 isolated from sourdough // International Journal of Food Microbiology. 1999, Vol. 48, pp. 167-177.

102. Todorov S., Vaz-velho M., Dicks L. Isolation and partial characterization of bacteriocin produced by four lactic acid bacteria isolated from traditional South African Beer // EJEAF Che, 2003, P. 525-530.

103. Uteng M., Hauge H., Brondz I., Nissen-Meyer J., Fimland G. Rapid two-step procedure for large-scale purification of pediocin-like bacteriocins and other cationic antimicrobial peptides from complex culture medium // *Appl. Environ.* Microbiol, 2002, Vol.68, pp. 952-956.

104. Wanda, J., Bonita A. Partial purification and characterization bacteriocin produced by Propionibacterium thoenii // Appl. Environ. Microbiol. 1991, Vol.57, pp. 701-706.

105. WHO, Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance, 2001, pp.99.

106. Yang R., Johnson M., Ray B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria // Appl. Environ.Microbiol., 1992, Vol. 58, pp. 3355-3359.

107. Zubillaga M., Weill R., Postaire E., Goldman C., Caro R., Boccio J. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases // Nutrition Research. 2001, Vol. 2, pp. 569-579.

108. Пуле - самый дорогой сыр в мире. Доступно по: http://libymax.ru/?p=48414 Ссылка активна на 10.10.2012.

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ

ԱՄ/մլ- ակտիվ միավոր/մլ

ԲՖԲ-բիֆիդոբակտերիա

ԳԱԿ-գիտաարտադրական կենտրոն

ԳԱՄ/մլ- գաղութ առաջացնող միավոր/միլիլիտրում

ԴԱ– դալտոն

ԿԹԲ- կաթնաթթվային բակտերիա

ԿՀ- կուլտուրալ հեղուկ

ՀՄՊ- հակամանրէային պատրաստուկ

Մթն/Պա- մթնոլորտ Պասկալ

LAB-Lactic acid bacteria

ՎՆՀ- վերնստվածքային հեղուկ

ՕԽ- օպտիկական խտություն

°T- տիտրվող թթվայնություն

Հավելված 1.

"ՀԱՍՏԱՏՈՒՄ ԵՄ"
ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գ/ա Կենտրոնի տնօրեն՝
ակադեմիկոս Ա.Ս. Սաղյան
"___" ________ 2018թ.

ՏԵՂԵԿԱՆՔ

ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գիտաարտադրական Կենտրոնի "Մանրէների ավանդադրման կենտրոն" հիմնարկում շտամի ավանդադրման վերաբերյալ

Սույն տեղեկանքը տրված է առ այն, որ 2018թ. մարտի 14-ին "Մանրէների ավանդադրման կենտրոն" հիմնարկը (ՄԱԿ) ավանդադրման նպատակով ընդունել է ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գ/ա Կենտրոնի "Սննդի կենսաանվտանգության" լաբորատորիայի կողմից ներկայացված շտամներ՝ *Enterococcus faecium* KE-5, KE-9, KAP-1, KA-3, KV-15-1, *Enterococcus durans* KE-6, KE-10, *Lactobacillus helveticus* KG-5', անհրաժեշտ փաստաթղթերով:

Ավանդադրված շտամներին ՄԱԿ-ում տրվել է համապատասխան **շիֆր և համար**՝ *Enterococcus faecium* KE-5 – **MDC 9662,** *Lactobacillus helveticus* KG-5' – **MDC 9663,** *E. faecium* KE-9 – **MDC 9664,** *E. durans* KE-6 – **MDC 9665,** *E. durans* KE-10 – **MDC 9666,** *E. faecium* KAP-1 – **MDC 9667,** *E. faecium* KA-3 – **MDC 9668,** *E. faecium* KV-15-1 – **MDC 9669:**

Համաձայն սահմանված կարգի, շտամի փոխանցումն այլ կազմակերպությանը կամ ֆիզիկական անձի, ինչպես նաև դրա օգտագործումն առևտրային և արտադրական նպատակներով հնարավոր է միայն հատուկ գրավոր թույլտվության առկայության դեպքում:

Հիմք՝ ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գ/ա Կենտրոնի "Սննդի կենսաանվտանգության" լաբորատորիայի առ. գիտ. աշխատողի, կ.գ.թ. **Ֆլորա Նուբարի Տխրունու** դիմումը՝ առ 2018թ. մարտի 14-ի:

ՄԱԿ-ի ղեկավար, կգթ — Հ. Զարգարյան

ՄԱԿ-ի Կուլտուրաների Հավաքածուի պահպանման պատասխանատու — Մ. Կինոսյան

ՄԱԿ-ի կաթնաթթվային բակտերիաների և շաքարասնկերի պահպանման պատասխանատու — Կ. Չիտչյան

Հավելված 2.

ԼՂ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ՀԱՄԱՊԱՏԱՍԽԱՆՈՒԹՅԱՆ ՀԱՎԱՍՏՄԱՆ ՀԱՄԱԿԱՐԳ

ՀԱՄԱՊԱՏԱՍԽԱՆՈՒԹՅԱՆ ՍԵՐՏԻՖԻԿԱՏ

N AST - A 01. A - 0479 -2017

ՍԵՐՏԻՖԻԿԱՑՄԱՆ ՄԱՐՄԻՆ

ԼՂՀ «Ստանդարտացման ,Չափագիտության և Սերտիֆիկացման կենտրոն» ՊՈԱԿ, ք.Ստեփանակերտ Նաբերեժնայա 3րդ նրբ.35/2, հեռ. 94-21-32, 94-82-03

Գործունեության ժամկետը 23.09.2017

Ուժի մեջ է մինչև 23.09.2018 N 000967

ԱՐՏԱԴՐԱՆՔԸ

Կաքնաքթվային մերան 0402 ԱՏԳ ԱԱ կոդը

սերիական թողարկում 10.51.52 ԱԴԳՏ կոդը

ՀԱՄԱՊԱՏԱՍԽԱՆՈՒՄ Է

ԱՀ ՏՊ 90025478.0196-2017

«Պարենային հումքի և սննդամթերքի անվտանգությանը և սննդային արժեքին ներկայացվող հիգենիկ պահանջներ» N 2-III-4.9-01- 2010 հիգիենիկ նորմատիվ պահանջներին:

ԱՐՏԱԴՐՈՂ

«Արցախի գիտական կենտրոն» ՊՈԱԿ

Ապրանքաուղեկից փաստաթղթերի տվյալներ

Հայտ թիվ 0479 առ 05. 09. 2017թ.

ՀԱՅՏԱՏՈՒ

ԼՂՀ ք. Ստեփանակերտ, փ. Տիգրան Մեծի 26

«Արցախի գիտական կենտրոն» ՊՈԱԿ

h/կոդը` 90025478

Սերտիֆիկատի հանձնման հիմքեր

Լաբորատոր փորձարկումների արդյունքները կատարված ԼՂՀ «ՍՉՍ կենտրոն» ՊՈԱԿ ՓԼ AST-001.Q-0012-2013, փորձ. արձ-ներ` թիվ 046 առ 12.09. 2017թ, թիվ 113 առ 15.09.2017թ և թիվ 047 առ 20.09.2017թ:

Լրացուցիչ տեղեկություններ

Համապատասխանության հսկողությունը իրականացնում է ԼՂՀ «ՍՉՍ կենտրոն» ՊՈԱԿ-ը:

Սերտիֆիկացված է 2ս սխեմայով:

Սերտիֆիկացման մարմնի ղեկավար Ս.Յու.Հարությունյան

Փորձագետ Ա. Հարությունյան

Կ.Տ

Հավելված 3.

Հաստատում եմ

«Արցախի գիտական կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի

Տնօրեն Ս.Վ.Դաղալյան

« » օգոստոսի 2017թ.

ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ՄԵՐԱՆ

ՏԵԽՆԻԿԱԿԱՆ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐ

ԱՀ ՏՊ 90025478.01 96-2017թ.

Գործարկման թվականը 2017թ.

«28» օգոստոսի 2017թ.

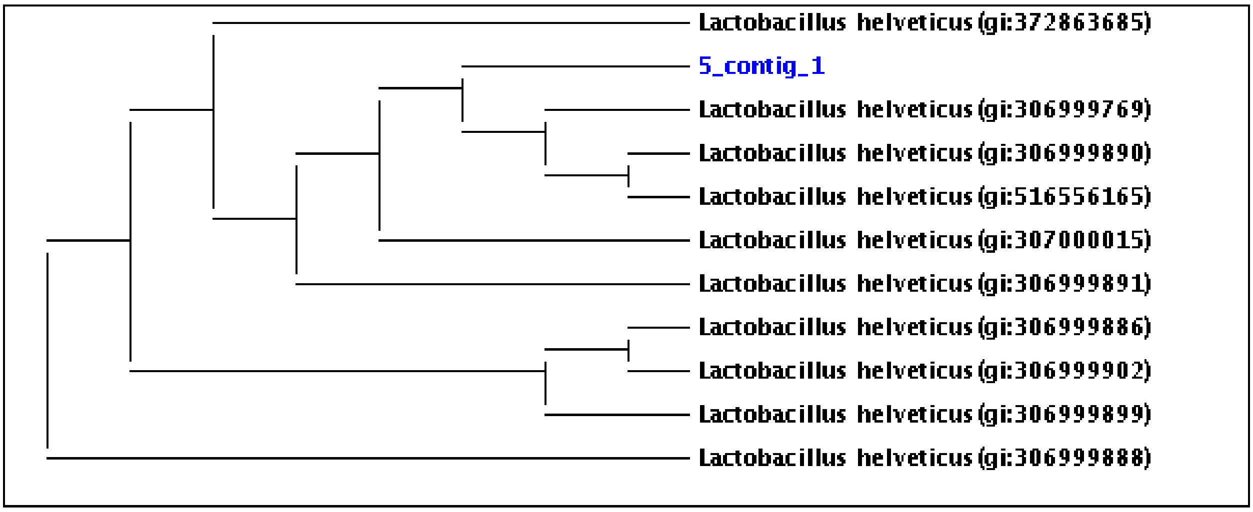
Գրանցված է գրանցամատյանում

«ՍՁՍ ԿԵՆՏՐՈՆ» ՊՈԱԿ
Գրանցված է 01.09.2017
Պետգրանցամատյանում
գրանցման № 0200

ք.Ստեփանակերտ, 2017թ.

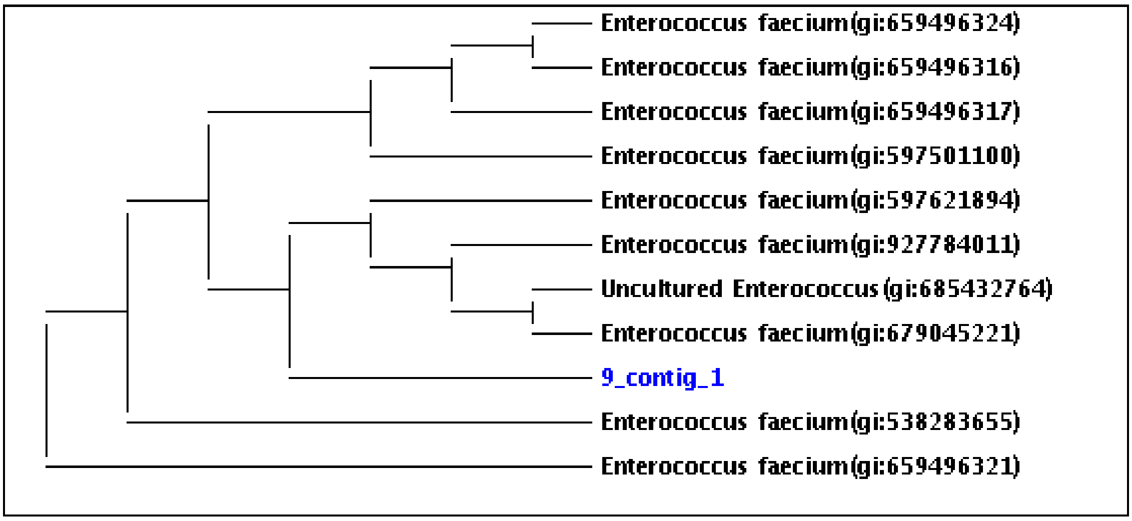
L.helveticus KG5 MDC 9663շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject						Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1432	Lactobacillus helveticus strain IMAU92012 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149406.1	1489	26	1458	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NS8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JQ013296.1	1507	2	1434	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM104-4 16S ribosomal RNA gene,	HM218446.1	1465	18	1450	2634	1426	0.0	1431	1433	98	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM72-7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218333.1	1485	22	1454	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM72-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218330.1	1483	22	1454	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM70-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218322.1	1473	20	1452	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM70-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218321.1	1463	17	1449	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM70-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218319.1	1495	34	1466	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM69-6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218317.1	1486	23	1455	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus
1	1432	Lactobacillus helveticus strain NM43-5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	HM218200.1	1463	16	1448	2634	1426	0.0	1431	1433	99	Plus/Plus



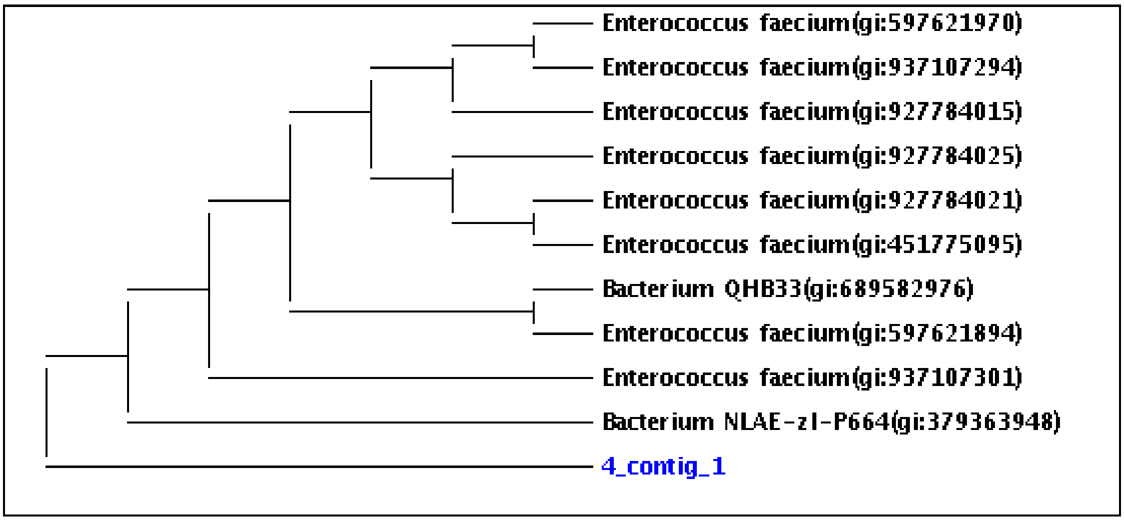
Ent. faecium KA3 MDC 9668 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1413	Enterococcus faecium strain 162 (C2TL(B)) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF254545.1	1450	23	1434	2591	1403	0.0	1410	1413	99	Plus/Plus
1	1415	Enterococcus faecium strain TW5-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ026572.1	1428	6	1419	2590	1402	0.0	1411	1415	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain UW7606x64/3 TC1, complete genome	CP013009.1	2686859	2684869	2686280	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain 64/3, complete genome	CP012522.1	2572333	1446945	1445534	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain GsfIV124 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR054669.1	1436	10	1421	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain TS4E3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ571216.1	1503	49	1460	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain TS3E3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ571213.1	1507	49	1460	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain TS2E2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ571209.1	1504	49	1460	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain TS1H4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ571208.1	1502	49	1460	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus
1	1413	Enterococcus faecium strain CCMMB1104 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF879155.1	1501	39	1450	2586	1400	0.0	1409	1413	99	Plus/Plus



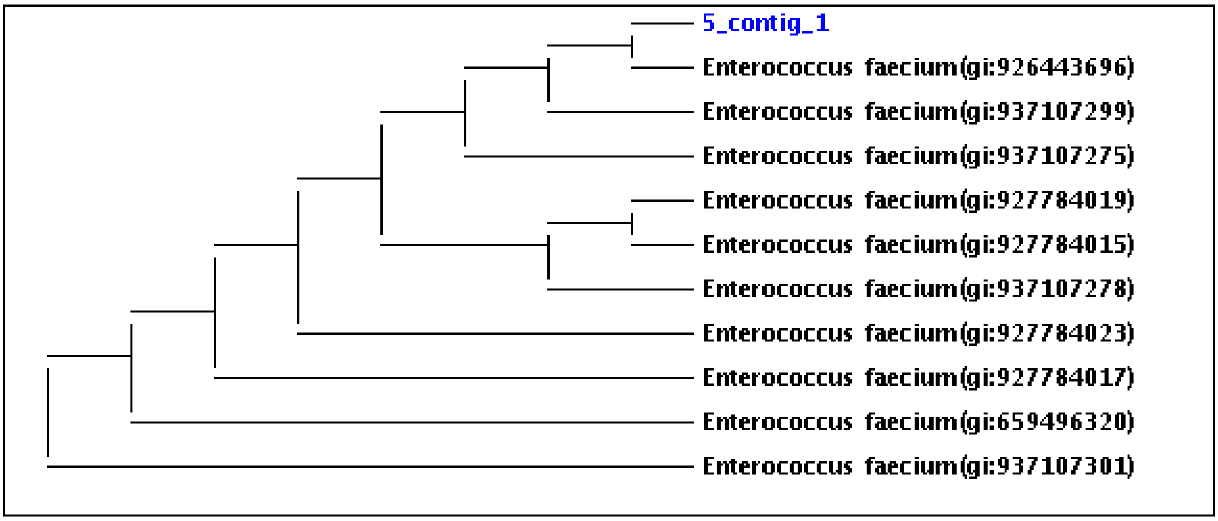
Ent. faecium KAP1 MDC 9667 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1427	Enterococcus faecium strain CAU191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF424500.1	1424	1	1424	2623	1420	0.0	1423	1424	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain CAU:193 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF369850.1	1461	19	1443	2621	1419	0.0	1424	1426	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain CAU:185 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF369848.1	1459	18	1442	2621	1419	0.0	1424	1426	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium isolate 2014-VREF-114, complete genome	CP019970.1	2804968	1029755	1028326	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Minus
1	1427	Enterococcus faecium strain ISMMS_VRE_9, complete genome	CP018830.1	2802604	2512957	2511528	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Minus
1	1427	Enterococcus faecium strain ISMMS_VRE_12, complete genome	CP018828.1	2807999	2518352	2516923	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Minus
1	1427	Enterococcus faecium strain VRE001, complete genome	CP018071.1	2933966	2706072	2707501	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain ISMMS_VRE_10 genome	CP012471.1	2869419	2547994	2549423	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain ISMMS_VRE_7, complete genome	CP012460.1	2850245	2627726	2629155	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain ISMMS_VRE_5, complete genome	CP012454.1	2818673	555584	557013	2621	1419	0.0	1427	1430	99	Plus/Plus



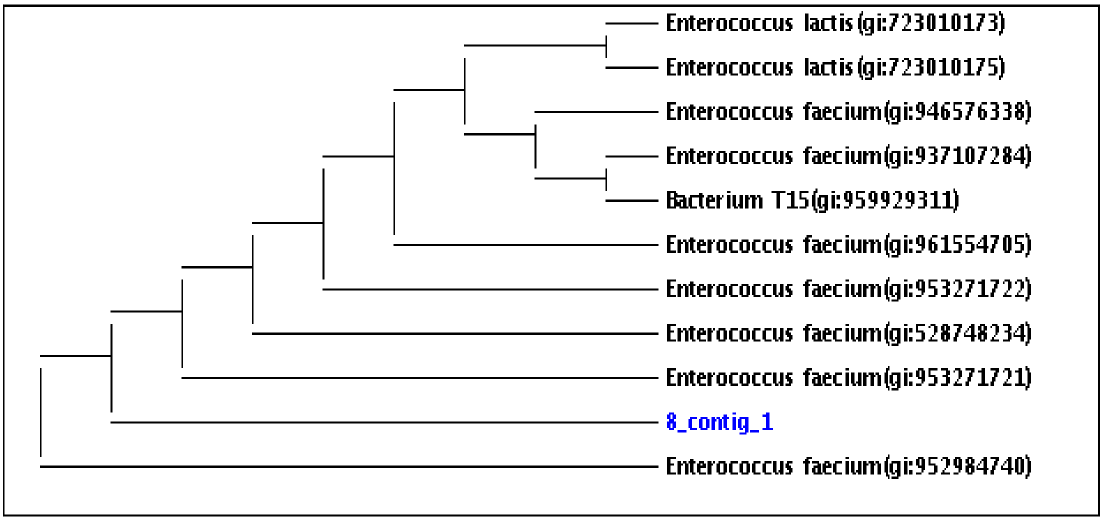
Ent. faecium KV15-1 MDC 9669 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU5898 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF429477.1	1399	211	1399	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU6743 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF425523.1	1423	234	1422	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU2798 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF425231.1	1423	235	1423	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecalis strain CAU4709 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF424993.1	1424	235	1423	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU6185 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF424781.1	1420	232	1420	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF424500.1	1424	236	1424	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU:193 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF369850.1	1461	255	1443	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU:185 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF369848.1	1459	254	1442	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain CAU4506 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	MF357353.1	1422	234	1422	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus
1	1198	Enterococcus faecium strain SsfIB34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR265159.1	1430	238	1426	2104	1139	0.0	1180	1198	98	Plus/Plus



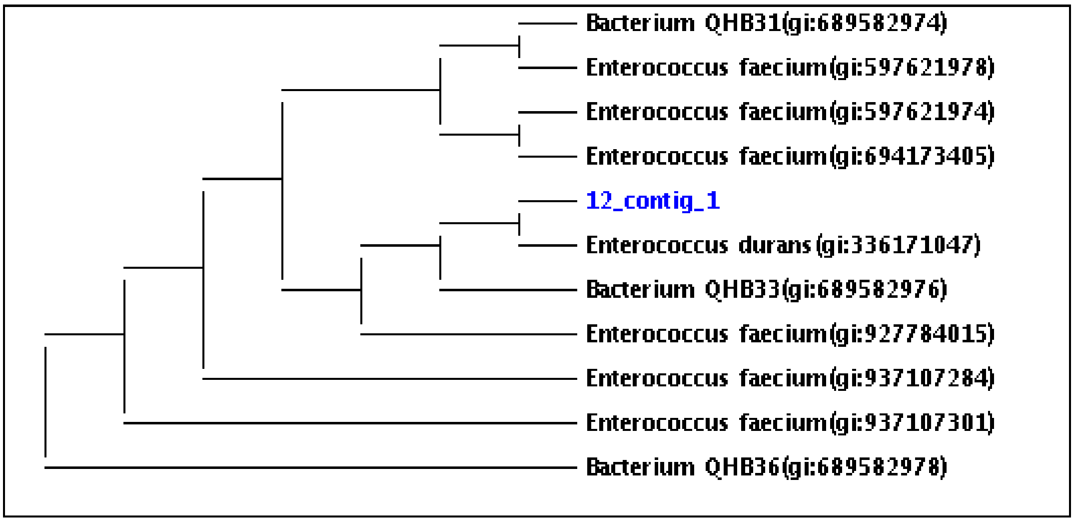
Ent. faecium KE5 MDC 9662 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1329	Enterococcus faecium strain UW7606x64/3 TC1, complete genome	CP013009.1	2686859	268855	270182	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain PT809 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KT124586.1	1409	25	1352	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain IMAU11491 (DM34-3) 16S ribosomal RNA gene, partial	KP764067.1	1402	13	1340	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain 344(F)_E02 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KP178084.1	1452	49	1376	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain E0-191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KP221620.1	1397	37	1364	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain gp80 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495943.1	1491	66	1393	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Bacterium QHB31 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ629294.1	1464	68	1395	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain 162 (C2TL(B)) 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF254545.1	1450	66	1393	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain IMAU94247 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149621.1	1407	18	1345	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus
1	1329	Enterococcus faecium strain IMAU94246 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149620.1	1401	17	1344	2431	1316	0.0	1325	1329	99	Plus/Plus



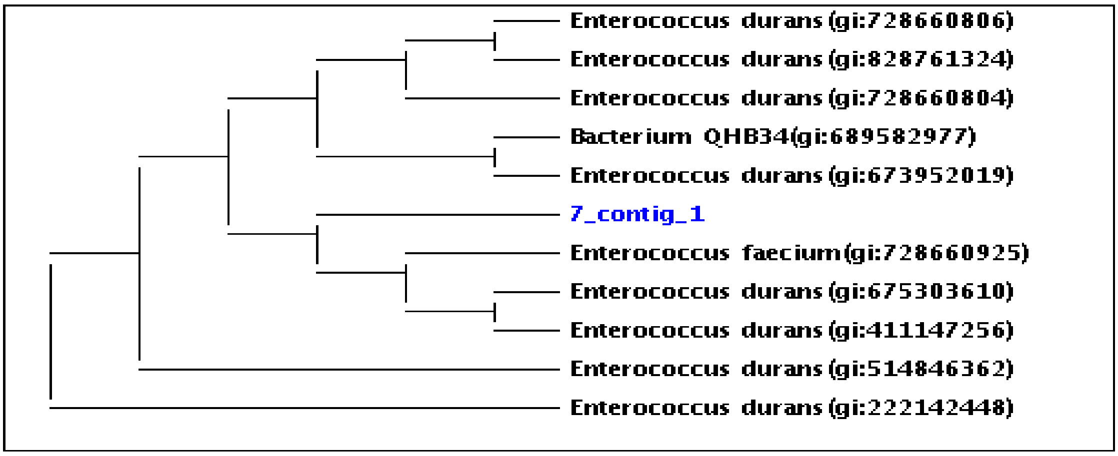
Ent. faecium KE9 MDC 9664 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1403	Enterococcus faecium strain SsfIB34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR265159.1	1430	23	1425	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus faecium strain SosIB328 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR265144.1	1418	10	1412	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus faecium strain GslIB2212 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR054671.1	1436	29	1431	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Bacterium QHB36 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ629298.1	1462	41	1443	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Bacterium QHB33 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ629296.1	1439	24	1426	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Bacterium QHB31 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ629294.1	1464	42	1444	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus faecium strain TW43-1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ026656.1	1417	12	1414	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus faecium strain TW41-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ026652.1	1439	20	1422	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus durans strain R07-28 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	JF896436.1	1473	46	1448	2519	1364	0.0	1391	1404	99	Plus/Plus
1	1403	Enterococcus faecium strain L11 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM186186.1	1423	1	1402	2518	1363	0.0	1390	1403	99	Plus/Plus



Ent. durans KE6 MDC 9665 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	1429	Enterococcus durans gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: qz131	AB761297.1	1463	22	1449	2627	1422	0.0	1427	1429	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain KLDS 6.0930, complete genome	CP012384.1	2867090	732723	734150	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain KLDS6.0933, complete genome	CP012366.1	2867028	1804440	1805867	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain SMN1-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KP408149.1	1474	24	1451	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus faecium strain gp39 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495940.1	1496	21	1448	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain gp85 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495855.1	1494	20	1447	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain gp58 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495853.1	1487	16	1443	2625	1421	0.0	1426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Bacterium QHB34 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ629297.1	1464	21	1447	2625	1421	0.0	425	1427	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain KLDS 6.0933 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ818114.1	1493	22	1449	2625	1421	0.0	426	1428	99	Plus/Plus
1	1427	Enterococcus durans strain KDLLJ2 -1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KJ890356.1	1469	21	1448	2625	1421	0.0	426	1428	99	Plus/Plus



Ent. durans KE10 MDC 9666 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S-ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%	Strand
1	1409	Enterococcus durans strain KLDS6.0629 16S ribosomal RNA	FJ607284.1	1441	9	1417	2486	1346	0.0	389	1410	99	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, strain: gz131	AB761297.1	1463	34	1441	2484	1345	0.0	388	1409	99	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans strain KLDS 6.0930, complete genome	CP012384.1	2867090	732736	734144	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans strain KLDS6.0933, complete genome	CP012366.1	2867028	1804453	1805861	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1407	Enterococcus faecium strain IMAU11167 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KR858820.1	1418	13	1418	2481	1343	0.0	386	1407	99	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans strain SMN1-2 16S ribosomal RNA gene, partial	KP408149.1	1474	37	1445	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus faecium strain gp39 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495940.1	1496	34	1442	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans strain gp85 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495855.1	1494	33	1441	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus durans strain gp58 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KM495853.1	1487	29	1437	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus
1	1409	Enterococcus faecium strain CA03-1 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	KJ958413.1	1536	15	1423	2481	1343	0.0	388	1410	98	Plus/Plus