

ՀՀ ԳԱԱ «ՀԱՅԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ» ԳԱԿ ՊՈԱԿ

ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ ԿԱՐԻՆԵ ՎԻԿՏՈՐԻ

Պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների ադիեզիան որպես ադեստամոքսային համակարգի բնականոն միկրոբիոտայի կարգավորիչ գործոն

Գ.00.07-«Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա»  
մասնագիտություն  
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի  
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսություն

ՍԵՂՍԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ-2016

---

НПЦ «АРМБИОТЕХНОЛОГИЯ» НАН РА ГНКО

АРУТЮНЯН КАРИНЕ ВИКТОРОВНА

Адгезия пробиотических молочнокислых бактерий как регулирующий фактор нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности  
03.00.07 – «Микробиология. биотехнология»

ЕРЕВАН-2016

Ատենախոսություն թեման հաստատվել է ԵՊՀ կենսաբանության  
ֆակուլտետում:

Գիտական ղեկավար՝

ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ,  
կ.գ.դ., պրոֆեսոր Ա. Զ.

Թռչունյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝  
Բադալյան

կ.գ.դ., պրոֆեսոր Ս. Մ.

կ.գ.թ., Կ. Վ. Չիտչյան

Առաջատար կազմակերպություն՝  
ազրարային  
համալսարան

Հայաստանի ազգային

ազրարային  
համալսարան

Ատենախոսությունը տեղի կունենա 2016 թ. դեկտեմբերի 23-ին,  
Ժամը 15<sup>00</sup>-ին, ՀՀ ԳԱԱ «Հայ կենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում գործող  
ՀՀ ԲՈՅ-ի Կենսատեխնոլոգիայի 018 մասնագիտական խորհրդի  
նիստում:

Հասցե՝ 0056, ՀՀ, ք. Երևան, Գյուրջյան փողոց 14, հեռ./ֆաքս (374 10)  
65 41 80:

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ  
«Հայ կենսատեխնոլոգիա»

ԳԱԿ-ի գրադարանում:

Ատենախոսության սեղմագիրն առաքված է 2016 թ. նոյեմբերի 23-  
ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտ. քարտուղար,  
կ.գ.թ.

Գ. Ե. Ավետիսովա

---

Тема диссертации утверждена на биологическом факультете ЕГУ.

Научный руководитель:

член-корреспондент НАН РА,  
д.б.н., профессор А. А. Трчунян

Официальные оппоненты:

д.б.н., профессор С. М. Бадалян  
к.б.н., К. В. Читчян

Ведущая организация

Национальный аграрный университет  
Армении

Защита диссертации состоится 23 декабря 2016 г. в 15<sup>00</sup> часов на заседании  
специализированного совета 018 Биотехнологии ВАК РА при НПЦ  
«Армбиотехнология» НАН РА.

Адрес: 0056, РА, г. Ереван, ул. Гюрджяна 14, тел./факс (374 10) 65 41 80.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НПЦ «Армбиотехнология»  
НАН РА.

Автореферат разослан 23 ноября 2016 г.

Ученый секретарь специализированного совета,  
к.б.н

Г. Е. Аветисова

## ՍԵՒԱՏԱՆՔԻ ԸՆԴՀԱՆՈՒՐ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

**Թեմայի արդիականությունը:** Վերջին տարիներին նկատվում է հարաճուն հետաքրքրություն այսպես կոչված գործառնություններին սննդամթերքների նկատմամբ: Համարվում է, որ նման սննդամթերքների օգտագործումը նվազեցնում է միջարքերունիկական հիվանդությունների առաջացման հավանականությունը, ինչպես նաև հնարավոր վարակային հիվանդությունների զարգացումը (Azyz et al., 2012): Նման սննդամթերքների դասին են պատկանում պրոբիոտիկները և արեբիոտիկները, որոնք ոչ միայն նվազեցնում են զանազան հիվանդությունների առաջացման հավանականությունը, այլև նաև նպաստում են օրգանիզմի իմունային համակարգի, դիմադրողականության բարձրացմանը (Pepoyan & Trchounian, 2009): Պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների (ԿԹԲ) օգտագործումը բարելավում է մարսողական համակարգի գործունեությունը, նվազեցնում աղիների պատի թափանցելիությունը՝ խոչընդոտելով ախտածին միկրոօրգանիզմների թափանցմանը ներս (Song et al., 2015): Բացի ընդունված կենսաբանական, կենսաքիմիական և ֆիզիկոքիմիական հատկություններից կարևոր նշանակություն ունի նաև կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաների ադիեզիայի հատկությունը՝ ընդունականությունը ամրանալու, պահպանվելու և բնակվելու մարսողական համակարգի լորձաթղանթում: Միկրոօրգանիզմների ադիեզիան ադեստամոքսային համակարգի էպիթելային բջիջների մակերեսին հանդիսանում է հաջող նախապայման նրանց հետագա գաղութացման և միջարք կարևոր կենսական գործառնությունների իրականացման համար (Tremaroli & Bäckhed, 2012): Վարակային հիվանդությունների զարգացման առաջին փուլ է հանդիսանում լիզանդ-ռեցեպտորային փոխազդեցությունը, որը պայմանավորված է միկրոօրգանիզմների ադիեզիայով մակրոօրգանիզմի զգայուն բջիջներին: Հետևաբար ԿԹԲ ադիեզիայի ուժգնությունը ադիքային էպիթելային բջիջներին ունի որոշիչ նշանակություն ախտածին միկրոօրգանիզմների դեմ պայքարում կիրառվող պրոբիոտիկների արդյունավետության համար (Pepoyan & Trchounian, 2009): Այսպիսով բժշկություն և կենսատեխնոլոգիայի կարևորագույն խնդիրներից է բարձր ադիեզիայի հատկությունը օժտված պրոբիոտիկ ԿԹԲ շտամների անջատումը (Воробьеv и т.д., 2006): Սակայն անհրաժեշտ է ընտրել կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաների այնպիսի շտամներ, որոնք արտադրում ադիեզիայի հատկության հետմիաժամանակ կցուցաբերեն նաև կայունություն արտաքին վնասակար նյութերի ազդեցության պայմաններում: Այդպիսի նյութեր կարող են հանդիսանալ սննդի միջոցով օրգանիզմներ թափանցած պահպանիչները, նիտրատները, հակաբիոտիկները, պեստիցիդները, հերբիցիդները և այլն: Ելնելով վերոհիշյալից՝ կարևոր է աղիների տրանսլոկացիան պրոբիոտիկ կաթնաթթվային և բիֆիդոբակտերիաներով, ինչը կնպաստի աղիների բնականոն միկրոէկոլոգիայի՝ միկրոբիոտայի ձևավորմանը: (Hsiao et al., 2013):

Այդ պատճառով հետաքրքիր էր ուսումնասիրել և ընտրել արտահայտված ադիեզիայի հատկությունը օժտված պրոբիոտիկ ԿԹԲ շտամներ, որոնք կպահպանեն իրենց հատկությունները մի շարք անցանկալի նյութերի ազդեցության ներքո՝ դրանով իսկ նպաստելով բնականոն ադիբային միկրոբիոտայի ձևավորմանը: Ինչպես կանխարգելիչ, այնպես էլ բուժման նպատակներով ընտրել արդյունավետ ԿԹԲ շտամներ և հիմնավորել նրանց ազդեցությունը կենսաբիոտայի պատածին միկրոօրգանիզմների զարգացումը կանխելու և նրանց կողմից արտադրած տոքսինները չենգոքացնելու գործում:

**Ուսումնասիրության նպատակներն ու խնդիրները:** Տվյալ աշխատանքի նպատակն էր ուսումնասիրել ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունը, ինչպես նաև տարբեր խտության ընկճող նյութերի կիրառման պայմաններում նրանց կենսունակության և ադիեզիայի հատկության փոփոխության ներքո:

Հետազոտության ներքին համար սահմանվել են հետևյալ խնդիրները՝

1. Ուսումնասիրել տարբեր խտության նիտրատների ( $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ), պահպանիչների (սորբիչնաթթու), հակաբիոտիկների (լևոմիցետին, Էրիթրոմիցին, Էնտերոֆոնոլիլ) ազդեցությունը ԿԹԲ տարբեր ցեղերին պատկանող շտամների կենսունակության, թթու առաջացման և կենսաբաղանջների գործառնական ակտիվության վրա:
2. Ուսումնասիրել ԿԹԲ հակաբակտերիական ակտիվությունը: Ներկայացնել պայմանական պատածին Էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիվության համեմատական զննատու մը:
3. Ուսումնասիրել տարբեր խտության նիտրատների (0,5-2%) առկայության պայմաններում մակարոնիված ԿԹԲ շտամների ադիեզիայի հատկությունը, մշակել միջոցներ՝ կանխելու կենսացենոզում նիտրատների տրանսֆորմացիան նիտրիտների և նիտրոզոամինների:
4. Բացահայտել տարբեր խտության նիտրատների (0,5-2%), ինչպես նաև նիտրատների և  $\text{N,N}'$ -դիցիկլոհեքսիլ կարբոնիլմիդի ( $\text{ԴՑԿԴ}$ ) զուգակցված ազդեցությունը *Lactobacillus acidophilus* Er 317/402 «Նարինե» շտամի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվության վրա՝ աճման միջավայրի pH 6,5-ի պայմաններում:
5. Ուսումնասիրել տարբեր խտության (0,001-0,004%) տարատեսակ հակաբիոտիկների ազդեցությունը ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության վրա և բացահայտել լակտոբացիլների ու ստրեպտոկոկների կենսունակության և ադիեզիայի առանձնահատկությունները այդ նյութերի առկայության պայմաններում:
6. Որոշել տարբեր խտության (0,2-2%) պահպանիչների (սորբիչնաթթու) կիրառման պայմաններում ԿԹԲ կենսունակության և ադիեզիայի հատկության փոփոխության ներքո:
7. Ընտրել նիտրատների, հակաբիոտիկների, պահպանիչների առկայության պայմաններում բարձր ադիեզիայի հատկությունը օժտված ԿԹԲ շտամներ, որոնք կարող են կիրառվել կաթնարդյունաբերության տարբեր

բնագավառներում, դեղագործական ոլորտում, բժշկության մեջ՝ աղետամոքսային հիվանդություններին հարուցիչներին զարգացումը ճնշելու և նիտրատների տրանսֆորմացիան կենսացենոզում կանխարգելու համար, կենսաառեխնուլոգիայի բնագավառում:

**Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական**

**Նշանակությունը:** Տվյալ աշխատանքի ընթացքում ուսումնասիրվել է տարբեր ցեղերին պատկանող պրոբիոտիկ ԿԹՖ ադիեզիայի հատկությունը մարդու, խոշոր և մանր եղջերավոր կենդանիների արյան կարմիր բջիջների հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով: Առանձնացվել են արտախտկամած ադիեզիայի հատկությամբ ԿԹՖ շտամներ, որոնք միաժամանակ օժտված են նաև բավականին բարձր հակաբակտերիական ազդեցությամբ մի շարք ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ, ինչը հեռանկարային է դարձնում լակտոբակտերիաների կիրառությունը բժշկության մեջ՝ աղետամոքսային և վարակային հիվանդություններին բուժման ժամանակ: Այս երկու հատկություններին միաժամանակյա դրսևորումը էլ ավելի արժեքավոր է դարձնում ԿԹՖ հիման վրա ստացված մերանների կիրառումը արտադրական և բժշկական ոլորտներում: Բազմաթիվ հեղինակների կողմից ուսումնասիրվել է պրոբիոտիկ ԿԹՖ ադիեզիայի հատկությունը տարբեր էպիթելային բջիջների վրա, ինչպիսիք են Caco-2 կամ Hela բջիջները, սակայն էրիթրոցիտների վրա կատարված հետազոտությունները գրականության մեջ սակավաթիվ են և կարելի է ասել դրանում է կայանում կատարված աշխատանքի նորույթը և դժվարությունը: Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը ընկճող նյութերի ազդեցությամբ՝ հեմագլյուտինացման ռեակցիայի շնորհիվ: Կարևոր նշանակություն ունի ադիների հիմնային pH-ում ԿԹՖ ակտիվությունը պահպանումը: pH 8-ի պայմաններում *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանել է կենսունակությունը և ադիեզիայի հատկությունը: Հաշվի առնելով հակաբիոտիկների լայն կիրառումը սննդի արդյունաբերության և ժամանակակից բժշկության մեջ՝ արդիական խնդիր է հանդիսանում հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն ԿԹՖ շտամների անջատումը, որոնք կպահպանեն իրենց կենսունակությունը և ադիեզիայի հատկությունը տվյալ նյութերի ամկայությամբ: Տարբեր խտության (0.001-0.004%) հակաբիոտիկների (լևոմիցետին, էրիթրոմիցին, Էնտերոֆոնրիլ) ամկայության պայմաններում ԿԹՖ ադիեզիայի հատկության նվազումը ուղիղ համեմատական է հակաբիոտիկների խտության բարձրացմանը: Դա ունի կարևոր նշանակություն, քանի որ խտության բարձրացմանը զուգընթաց մեծանում է հակաբիոտիկի նկատմամբ բակտերիաների զգայունությունը, հետևաբար նվազում է նաև ադիքային միջավայրում կայունության գենետիկական հիմքերի ընդհանրական տեղափոխման հավանականությունը: Միաժամանակ ընկճում է ԿԹՖ թթվազոյացման Էներգիան, որը ևս համարվում է կարևոր գործոն՝ հատկապես կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ՝ վերջիններին օրգանուլեպտիկ հատկություններին

պահ պան ման համար: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարիսե» շտամի կայունությունը նիտրատների և սորբիտաթթվի բարձր խտությունների նկատմամբ հնարավորություն է տալիս սննդի ընդունման ժամանակ որոշ չափով չէզոքացնել սննդում առկա նյութերից ստացված վնասի աստիճանը և մշակել միջոցներ՝ կանխելու միկրոբիոտայում նիտրատների տրանսֆորմացիան նիտրիտների և նիտրոզոամինների:

**Պաշտպանությունը ներկայացվող հիմնական դրույթները:**

1. Նիտրատների, պահպանիչների, հակաբիոտիկների և pH-ի տարբեր արժեքների ազդեցությունը հետևյալ ցեղերին պատկանող տեսակների՝ *L. acidophilus*, *L. delbrueckii var. bulgaricus var. mazuni*, *L. jugurtii*, *S. lactis*, *S. thermophilus* (5 շտամ) խմորման ու ժգնության և ադիեզիայի հատկության վրա:

2. Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիվության համեմատական գնահատումը CFA I (CFA-colonization factors antigens) և CFA II ադիեզիվության գործոնների միջոցով:

3. *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարիսե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը հակաբակտերիական ակտիվության և նիտրատների նկատմամբ կայունության ապահովման մեջ:

**Յեղիակի անձնական ներդրումը:** Յեղիակի անձնական ներդրումը ներառում է առաջին անգամ ընկճող նյութերի (հակաբիոտիկներ, նիտրատներ, պահպանիչներ) ազդեցությամբ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության համեմատական վերլուծության իրականացումը, ձևակերպված խնդիրների փորձնական իրականացումը, գիտական հոդվածների և աստեճատության անձնակերպումը: Յետազոտությունների արդյունքները քննարկվել, իսկ հիմնական մեթոդները մշակվել են գիտական ղեկավար, ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ, կ.գ.դ., պրոֆ. Ա. Յ. Թռչունյանի և առաջատար գիտաշխատող՝ կ.գ.դ. Լ.Յ. Յակոբյանի ու բ.գ.թ. Ն. Մ. Յարույնյանի հետ համատեղ:

**Աշխատանքի արդյունքները:** Աստեճատության արդյունքները գեկոնցվել են ԵՊՅ Կենսաբանության և կենսաառնվող գիտության ամբիոնում, ինչպես նաև «Биофарма-2010 от науки к промышленности» միջազգային կոնֆերանսում (Ереван 17-20 мая 2010 г.), Երիտասարդ գիտնականների 2-րդ միջազգային գիտաժողովում «Երիտասարդների ավանդը կենսաառնվող գիտության զարգացման գործընթացում» (Երևան, հոկտեմբերի 1-4, 2013 թ.), 50th FEBS Congress “From Molecular Mechanisms to Cellular Functions” (Paris, France, 30 August - 4 September, 2014), Երիտասարդ գիտնականների 3-րդ միջազգային գիտաժողովում «Երկխոսությունը գիտության մասին» (Երևան, հունիսի 23-26, 2015 թ.) և The 6th Congress of European Microbiologists (FEMS) (Maastricht, The Netherlands, 7-11 June, 2015):

**Յրատարակված աշխատություններ:** Աստեճատության արդյունքները ներկայացված են 15 հրատարակումներում, այդ թվում՝ 7 միջազգային և տեղական գիտական ամսագրերում հոդվածների ձևով և 8 միջազգային գիտաժողովների թեզիսների ժողովածուներում:

**Աշխատանքի իրականացման վայրը:** Աշխատանքը իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայ կենսաառնվող գիտություն» ԳԱԿ-ի Կաթնաթթվային

բակտերիաների և շաքարասնկերի լաբորատորիայում, ԵՊՀ Կենսաքիմիայի, մանրէաբանության և կենսատեխնոլոգիայի ամբիոնում: Հիմնական մեթոդի մշակումն իրականացվել է ՀՀ ԱՆ Ա. Բ. Ալեքսանյանի անվան համաճարակաբանության, վիրուսաբանության և բժշկական մակաբուծաբանության գիտահետազոտական ինստիտուտի հետ համատեղ:

**Անեւախոսության ծավալը և կառուցվածքը:** Աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրական ակնարկից, հետազոտությունների նյութերից և մեթոդներից, հետազոտությունների արդյունքներից և դրանց քննարկումից, ամփոփումից, եզրակացություններից և գրականության ցանկից: Աշխատանքը շարադրված է 133 էջի վրա, ներառում է 9 աղյուցակ, 17 նկար և 263 գրական հղում:

## ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

Գրական ակնարկը կազմված է 9 բաժիններից, որտեղ ներկայացված են ԿԹԲ ընդհանուր բնութագիրը և տարածվածությունը, դասակարգումը և նյութափոխանակության հիմնական ուղիները: Նկարագրված են *L. acidophilus* տեսակի ընդհանուր բնութագիրը, պրոտոնային ԱՏՖազի կառուցվածքը և գործառնության նշանակությունը: Ներկայացված են հակաբիոտիկների, նիտրատների և պահպանիչների ընդհանուր բնութագիրը, դասակարգումը, ազդեցության մեխանիզմները, ինչպես նաև ԿԹԲ ադիեզիան ադիբային լորձաթաղանթին, ադիեզիայի մեխանիզմները և ադիեզինների տեսակները:

## ՀԵՏԱՉՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

**Հետազոտության օբյեկտները:** Աշխատանքում օգտագործվել են ավանդադրված ԿԹԲ 5 շտամներ՝ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» (ՄԸԿ-9602), *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» (ՄԸԿ-9603), *L. jugurtin*<sub>110</sub> (ՄԸԿ-9606), *Streptococcus lactis* 1304 (ՄԸԿ-9607) և *Streptococcus thermophilus* M<sub>7</sub> (ՄԸԿ-9608), որոնք տրամադրվել են ՀՀ ԳԱԱ «Հայ կենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Մանրէների ավանդադրման կենտրոնի հիմնարկի կողմից:

**ԿԹԲ աճեցումը և երկարաժամկետ պահպանումը:** ԿԹԲ պահպանվել են յուրաքանչյուր կաթում և հեղուկ ՄՌԾ սննդամիջավայրում ամիսը մեկ անգամ փոխացանք կատարելու միջոցով: Միջավայրի pH-ը պահպանվել է 6.5-6.6 սահմաններում, իսկ ջերմաստիճանը՝ 37.0±0.5°C, եթե այլ ջերմաստիճան հաջորդիվ նշված չէ: Երկարաժամկետ պահպանման համար ԿԹԲ պահվել են սառցախցիկում -32°C ջերմաստիճանում, ՄՌԾ սննդամիջավայրում, որին ավելացվել է զլիցերոլ:

**ԿԹԲ աճման տեսակարար արագության որոշումը:** Բակտերիաների աճը ուսումնասիրվել է սպեկտրոֆոտոչափիչի միջոցով՝ յուրաքանչյուր կես ժամը մեկ չափելով ԿԹԲ կախույթի օպտիկական խտությանը (ՕԽ<sub>650</sub>): Աճման տեսակարար արագությանը որոշվել է 0.693-ը (ln2) բաժանելով ՕԽ կրկնապատկման ժամանակի վրա (աճի լոգարիթմական փուլի, երբ ժամանակի ընթացքում օպտիկական խտության փոփոխությունը

գծային բնույթ է կրում) և արտահայտել  $r^{-1}$ , կամ  $\sigma^{-1}$  չափման միավորներով (Թճ ու Նյան և ուրիշներ., 2012):

**ԿԹԲ թթվայն և ուղեղային ըստ Թյորներ (ՕԹ) աստիճանի:**

ԿԹԲ թթու ամառացման ընդունակությունը որոշվել է ըստ Թյորների տիտրման մեթոդի (Hakobyan et al., 2016): Տիտրումը իրականացվել է 0,1մոլ/Լ<sup>-1</sup> NaOH-ի լուծույթով՝ մինչև թույլ վարդագույն երանգավորումը: Արդյունքները արտահայտվել են ըստ Թյորների աստիճանի (ՕԹ) ծախսված NaOH-ի քանակությունը (մլ-ով) բազմապատկելով 10-ով՝ մլ-ը ՕԹ-ի վերածելու գործակիցով:

**ԿԹԲ ադիզայի հատկության ուսումնասիրությունը:**

Բակտերիական բջիջների ադիզայի հատկության ուսումնասիրությունը կատարվել է ապակու վրա հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով՝ մարդու և տարբեր կենդանիների արյան օգտագործմամբ: Հեմագլյուտինացման դրսևորումը Էրիթրոցիտներից առնվազն մեկի հետ վկայում է մանրէների ադիզայի գործոնների առկայություն մասին (Harutyunyan et al., 2015):

**ԿԹԲ հակաբակտերիական ակտիվություն ուսումնասիրությունը:**

ԿԹԲ հակաբակտերիական ակտիվություն ուսումնասիրվել է ազարում դիֆուզիայի մեթոդով (Papagianni et al., 2006): Նախապես պատրաստվել են թեստ-օրգանիզմների գիշերային աճի կուլտուրաներ: Չափվել են թեստ-օրգանիզմների աճի ճնշման գոտիները, և առնվազն 2 մմ եզրագծով աճի ճնշման գոտիները նվել է որպես դրական:

**ԿԹԲ զգայուն և ուղեղային հակաբիոտիկների նկատմամբ:**

Հակաբիոտիկ նյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ զարգացման վրա որոշվել է մանրէազերծ կաթին ավելացնելով թորած ջրի մեջ պատրաստված հակաբիոտիկների տարբեր խտությամբ լուծույթներ: Պատրաստի լուծույթը ցանվել է փորձարկվող շտամներով և պահվել կուլտուրայի զարգացման համար օպտիմալ ջերմաստիճանում:

**ԿԹԲ զարգացման վրա նիտրատների և պահպանիչների ազդեցությունը:**

ԿԹԲ դիմացկունությունը նիտրատների և պահպանիչների նկատմամբ որոշվել է կաթում՝ նախապես նրան ավելացնելով վերոհիշյալ նյութերի տարբեր խտություններով լուծույթներ (L.Hakobyan et al., 2016):

**ԿԹԲ «ուղիղ» թաղանթային բշտիկների ստացումը:**

«ուղիղ» թաղանթային բշտիկները ստացվել են պրոտոպլաստները լիզոցիմով լիզոսի ենթարկելով ըստ Քյոնինգսի և Կեբակի մեթոդի (Konings and Kaback, 1973):

**ԱՖՏ-ազային ակտիվություն որոշումը:**

ԱՖՏ-ազային ակտիվությունը որոշվել է թաղանթային բշտիկների հետ ԱՖՏ-ի ռեակցիայի արդյունքում անջատված անօրգանական ֆոսֆատի (Ֆանօրգ) քանակի հաշվարկի միջոցով (Tausky and Shorr 1953): ԱՖՏ-ազային ակտիվություն ունեցող արտահայտվել է միավոր ժամանակում սպիտակուցի միավոր քանակից (մկգ) անջատված Ֆանօրգ. քանակով (մկՄոլ):

**Փորձերի արդյունքների մշակումը:**

Հետազոտությունները արդյունքները ներկայացված են առնվազն 3 անկախ փորձերի միջին արժեքներով: Փորձերի տվյալները ենթարկվել են



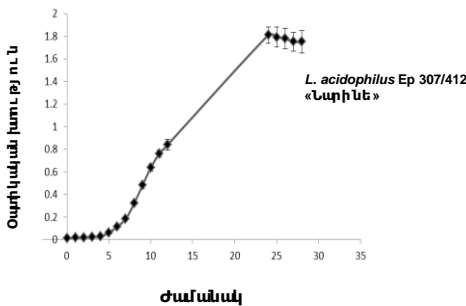
վիճակագրական մշակման: Մասնավորապես Սթյուդենտի t-թեստի միջոցով փորձերի արդյունքներում ստացված տվյալների հավաստիության գնահատման համար օգտագործվել է R Project for Statistical Computing version R 3.1.0 (Ավստրիա) ծրագիրը: Աշխատանքում բերված արդյունքերը հավաստի են ( $p < 0.05$ ), եթե այլ արժեք հաջորդիվ բերված չէ:

## ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱԿՈՒՄԸ

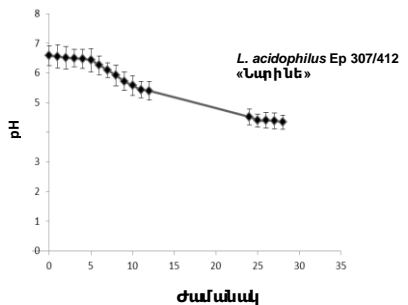
### ***Lactobacillus acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճման տեսակարար արագության և աճի ընթացքում pH-ի փոփոխությունները:**

ԿԹՔ աճը ուղղակիորեն բնորոշում է շտամի ներուժային հնարավորությունը պահպանվելու և զարգանալու ադիներում: Աշխատանքի կատարման ընթացքում որպես առանցքային շտամ վերցվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը և կատարվել են համեմատական ուսումնասիրություններ այլ արոբիոտիկ ԿԹՔ շտամների հետ: Ինչպես երևում է Նկ. 1-ից (ա, բ), *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ՕԻՄ աճման կորագիծը և pH արժեքների փոփոխությունները ցուցաբերում են որոշակի օրինաչափություն: Բջջերի աճման սկզբնական կամ լագ (4-4.5 ժամ) փուլից մինչև էքսպոնենցյալ կամ լոգարիթմական (լոգ) փուլի 11-րդ ժամը ակնհայտորեն նկատվում է ՕԻՄ և կենսունակ բջջերի քանակի կտրուկ աճ, pH-ը պահպանվում է 6.5-5.5-ի սահմաններում: Այս փուլը բնութագրվում է բջջերի բաժանման հաստատուն առավելագույն արագությամբ: Ստացիրոնար փուլը բավականին կարճ է (Նկ. 1 ա, բ), և այս փուլում բջջերի թիվը դադարում է աճել: Բակտերիաների աճմանը զուգընթաց տեղի է ունենում միջավայրի pH-ի անկում, բջջերի աճման 24-28-րդ ժամում pH-ի ցուցանիշը տատանվում է 4.52-4.34:

ա)



բ)

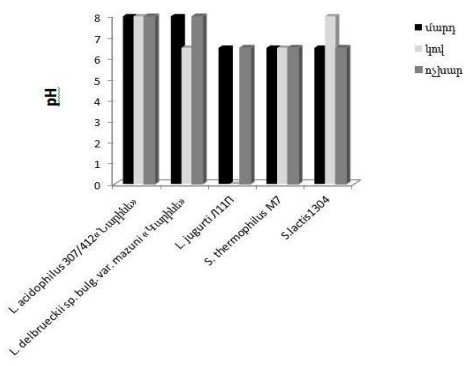


Նկ. 1. *L. acidophilus*-ի աճի ընթացքում ա) ՕԻՄ-յան և բ) pH-ի փոփոխությունները՝ ժամանակից կախված: Բակտերիաներն աճեցվել են ՄՈՇ սննդային միջավայրում, pH 6.5-ում, կուլտիվացման ջերմաստիճանը  $37 \pm 2^\circ\text{C}$ :

Նմանատիպ տվյալներ ստացվել են նաև այլ հեղինակների կողմից (Mataragas et al., 2003), երբ *Lactobacillus curvatus* L442 և *Leuconostoc mesenteroides* L124-ի մոտ որպես աճման օպտիմալ pH նույնպես համարվել են 6-6.5 սահմաններում ընկած արժեքները: Ավելի ցածր՝ pH 4-ի պայմաններում բակտերիաների աճը կտրուկ նվազել է: Այս փաստը ևս մեկ անգամ վկայում է այն մասին, որ ցածր pH-ի պայմաններում լակտոբակտերիաների աճման տոկոսը ցածր է: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճման տեսակարար արագությունը կազմում է  $0.63 \pm 0.01$  ժամ<sup>-1</sup>:

**Պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիայի և հեմոլիտիկ հատկությունները: Ադիեզիան միջավայրի pH 6.5 և pH 8-ում:**

Ուսումնասիրված ԿԹԲ շտամների մեծամասնությունը ցուցաբերել են արտահայտված ադիեզիայի հատկություն: Միաժամանակ բոլոր շտամներում նկատվել է հեմոլիտիկ ակտիվության բացակայություն: Ադիեզիայի հատկության հետազոտությունների ընթացքում միջավայրի pH-ը ընտրվել է՝ ելնելով ֆիզիոլոգիական պայմաններում ադիների pH-ից (pH 8) և լակտոբակտերիաների աճման համար օպտիմալ pH արժեքից (pH 6.5): Հիմնային միջավայրում (pH 8) առավել արտահայտված ադիեզիայի հատկությունն նկատվում է *L. acidophilus* Ep 307/412 «Նարինե» և *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամներում, իսկ *S. thermophilus* M7 և *L. jugurti*<sub>1111</sub>-ի մոտ ադիեզիայի հատկությունը ամբողջովին ճնշվում է հիմնային pH-ի պայմաններում (Նկ. 2): Ակտիվության անկում նկատվում է նաև *S. lactis* 1304 շտամի մոտ: Կարելի է ենթադրել, որ հիմնային միջավայրը թողնում է որոշակի ազդեցություն և կամ բակտերիաների մակերեսային, կամ էրիթրոցիտների մակերեսային ակտիվ մոլեկուլների վրա, ինչի հետևանքով նրանց ադիեզիայի հատկությունը թուլանում է: Այս ցուցանիշը կարևոր է նաև որպես պրոբիոտիկներ նրանց կիրառման համար, քանի որ, ինչպես բազմիցս նշվել է, պրոբիոտիկ շտամերին ներկայացվող հիմնական պահանջներից մեկը հանդիսանում է ադեստամոքսային ուղիով անցման ընթացքում ադիների հիմնային pH-ում իրենց ակտիվության պահպանումը (Ljungh and Wadström, 2006):



Նկ. 2. ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունը նրա կախումը միջավայրի pH-ից: Բակտերիաները աճեցվել են pH 6.5 և 8-ում, 37°C շերմաստիճանում:

**ԿԹՔ հակաբակտերիական ակտիվության ուսումնասիրումը: Պայ մանական պատածին Էնտերոբակտերիաների և սրբոհոտիկ ԿԹՔ ադիեզիվության համեմատական գնահատումը:**

Վարակի առաջնային օջախում մանրէների բազմացմանը և թունավոր հատկությունների դրսևորմանը նախորդում է նրանց ադիեզիան՝ ամրացումը հյուսվածքին, լորձաթաղանթին, որտեղից էլ սկսվում է վարակիչ գործընթացի հավանական զարգացումը: Ինչպես երևում է Աղ. 1-ից, ԿԹՔ շտամներից արտահայտված հակաբակտերիական ակտիվությունը ցուցաբերում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը՝ ճնշելով ինչպես գրամ-դրական, այնպես էլ գրամ-բացասական պատածին միկրոօրգանիզմների աճն ու զարգացումը: Այս շտամում առավել լայն աճի ճնշման գոտի նկատվում է *Bacillus subtilis* և *Pseudomonas aeruginosa*-ի նկատմամբ (27 մմ): Փորձարկված շտամներից գրեթե բոլորը ցուցաբերում են համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիական ազդեցությունը *Klebsiella pneumoniae*-ի նկատմամբ՝ առաջացնելով միջինում  $17 \pm 0.25$  մ տրամաչափով աճի ճնշման գոտի (Աղ. 1): Նմանատիպ արդյունքներ գրանցվել են նաև Կալալուի և ուրիշն. (Kalalou et al., 2004) աշխատանքներում, որտեղ նշվում են մի շարք ԿԹՔ, որոնք ցուցաբերել են անտագոնիստական հատկություններ հետևյալ պատածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ՝ *E.coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. cereus*, և աճի ճնշման գոտիները տատանվել են 14-28 մմ-ի սահմաններում:

Աղ. 1. ԿԹՔ հակաբակտերիական ակտիվությունը որոշ պատածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ:

Յայտնի են գաղութացնող գործոնների հակազեններ, որոնք

Թեստ-միկրոօրգանիզմներ	<i>Lactobacillus</i>		
	<i>acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե»	<i>jugurti</i> <sub>1111</sub>	<i>delbrueckii subs.bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»
	աճի ճնշման գոտիներ, մմ		
<i>S. aureus</i>	25±1.5	23±1.4	19±1.0
<i>B. subtilis</i>	27±1.4	22±1.1	23±1.2
<i>M.phlei</i>	24±1.2	18±1.0	19±0.9
<i>S. paratyphi</i>	26±1.3	19±1.0	26±1.3
<i>S. typhi</i>	25±1.0	18±0.8	24±1.2
<i>Citrobacter</i> sp.	26±1.6	17±1.0	20±1.2
<i>K. pneumoniae</i>	23±1.2	17±0.9	17±0.8
<i>P.aeruginosa</i>	27±1.6	21±1.1	25±1.3
<i>E.coli</i>	26±1.3	20±1.2	20±1.2

լինում են երկու տիպի՝ CFA I և CFA II (Յարությունյան և ուրիշն., 2015): Այս գործոնները հնարավորություն են տալիս մանրէներին ադիեզիվելու մարդու աղիների Էպիթելային բջիջների համապատասխան ռեցեպտորներին:

Ինչպես երևում է Աղ. 2-ից, պայմանական պատածին Էնտերոբակտերիաների մոտ գաղութացնող գործոնները հայտնաբերվել են 52 դեպքերում (52.0±5.0%),

Աղ. 2. Պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաների և կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաների ադիեզիվու թյան ստուգման արդյունքները:

որոնք առավել ապես արտահայտված են *K. pneumonia* (60.0±10.9%), *P. vulgaris* և *P. mirabilis* շտամների մոտ (55.0±11.1%) (Աղ. 2): Ընդհանուր առմամբ CFA I գործոնը հայտնաբերվել է 23 (44.2±6.9%), իսկ CFA II գործոնը՝ 29 դեպքերում (55.8±6.9%): ԿԹՖ մոտադիեզիվու թյան CFA գործոնը հայտնաբերվել է յոթ դեպքերում (35.0±10.7%), որոնցից CFA I՝ հինգում (71.4±17.0%), իսկ CFA II՝ երկուսում (28.6±17.0%): Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ ախտածնության հատկություններն առավել վառ արտահայտված են այն պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաներում, որոնց մոտ գերակշռում է ախտածնության CFA II գործոնը: Իսկ պրոբիոտիկ ԿԹՖ մոտ գերակշռում է CFA I գործոնը: Վերլուծելով Աղ. 1 և 2՝ կարելի է ենթադրել, որ ԿԹՖ մեծամասնության համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիական ազդեցությունը *K. pneumonia*-ի նկատմամբ պայմանավորված է վերջինիս մոտ գաղութացնող գործոնի բարձր տոկոսով: Պարզվել է նաև, որ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե», *L. delbrueckii subs. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» ունեն CFA I տիպի ադիեզիվներ, *S. lactis* 1304՝ CFA II, իսկ *L. jugurti*, *S. thermophilus* M7 շտամները ունեն P տիպի ֆիմբրիաներ (Չարունյան և ուրիշ., 2015):

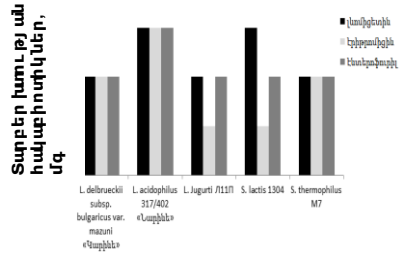
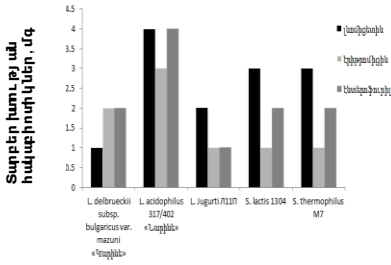
**Չակաբիոտիկների ազդեցությունը ԿԹՖ ադիեզիայի հատկության վրա**

Մարդու արյան Էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացման ռեակցիայի արդյունքում (Նկ. 3ա) առանձացվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը, որը ցուցաբերում է ադիեզիայի հատկությունն լևոմիցետինի և Էնտերոֆոնրիլի  $\leq 0.004\%$  խտություններին կիրառման պայմաններում:

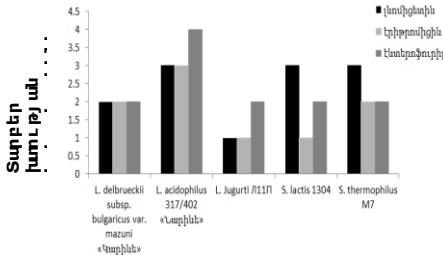
ա) մարդու արյուն

բ) կովի

Մանրէի տեսակ	CFA		CFA I		CFA II	
	բաց.թ.	%	բաց.թ.	%	բաց.թ.	%
<i>Citrobacter</i> (20 շտամ)						
<i>K. pneumoniae</i> (20 շտամ)	10	50.0±11.1	4	40.0±15.5	6	60.0±17.3
<i>P. vulgaris</i> (20 շտամ)	12	60.0±10.9	5	41.7±14.2	7	58.3±14.2
<i>Serratia</i> (20 շտամ)	8	40±10.9	4	50.0±17.7	4	50.0±17.7
<i>P. mirabilis</i> (20 շտամ)	11	55.0±11.1	5	45.5±15.0	6	54.5±15.0
Ընդհամենը						
Պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաներ (100 շտամ)	52	52.0±5.0	23	44.2±6.9	29	55.8±6.9
Կաթնաթթվային բակտերիաներ (20 շտամ)	7	3.5±10.7	5	71.4±17.0	2	28.6±17.0



գ) ոչ խառի



Նկ. 3 ա, բ, գ. ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունները տարբեր խտուրթային և ումիցետիկի, Երիթրոմիցինի, Էնտերոֆոնոլիլի ազդեցությանը:

Ուսումնասիրության համար օգտագործվել են երեք տեսակի արյուն՝ ա) մարդու, բ) խոշոր եղջերավոր կենդանու (կով), գ) մանր եղջերավոր կենդանու (ոչ խառ), որոնցից պատրաստվել են Երիթրոցիտների երեք տոկոսանոց կախույթներ:

Թույլ արտահայտված ադիեզիայի հատկություններն նկատվում է *L. Jugurti*<sub>J1117</sub> շտամում: Ի տարբերություն մարդու Երիթրոցիտների՝ կովերի արյան կարմիր բջիջներին ԿԹԲ ադիեզիան նույնպես արտահայտված է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Լապիկ» շտամում նշված բոլոր հակաբիոտիկների կիրառման ժամանակ (Նկ. 3բ): Իսկ ոչ խառի արյան Երիթրոցիտների հետ հեմագլյուտինացիայի մեխանիզմի ընթացքում *L. acidophilus* Ep 317/402 «Լապիկ» շտամը ցուցաբերել է արտահայտված ադիեզիայի միայն Էնտերոֆոնոլիլի 0.004%-ի դեպքում (Նկ. 3գ): Ուշադրություն է արժանի այն փաստը, որ *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M<sub>7</sub> շտամները, որոնք ըստ իրենց հատկությունների համարվում էին համեմատաբար թույլ շտամներ, այնուամենայնիվ պահպանում են իրենց ադիեզիայի հատկությունները: Այս պիտուկ, *L. acidophilus* Ep 317/402 «Լապիկ» շտամը մարդու և կենդանիների արյան կարմիր բջիջների հեմագլյուտինացիայի մեխանիզմի ժամանակ տարբեր խտուրթային հակաբիոտիկների կիրառման պայմաններում ցուցաբերում է արտահայտված ադիեզիայի հատկություններ, ինչը ադեստադեքսային ուղիով անցման ժամանակ նրա կենսունակության պահպանման համար հանդիսանում է կարևոր նախապայման: Ստացվում է, որ ադիեզիայի հատկության թուլացումը ուղիղ համեմատակալ է հակաբիոտիկների քանակությանը կաթում: Բացի այդ, հակաբիոտիկների խտուրթայինների աստիճանական բարձրացմանը զուգընթաց ԿԹԲ անման արգելակումը թույլ է տալիս ենթադրել, որ տվյալ շտամը հավանաբար չի կրում հակաբիոտիկ-կայուն գեներ, որոնք կփոխանցվեն ախտածին միկրոօրգանիզմներին: Յետևաբար այն լիարժեք կարող է գտնել իր կիրառությունը որպես պրոբիոտիկ

բժշկության մեջ, դեղագործության ոլորտում և կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ:

**Նիտրատների ազդեցությունը պրոբիոտիկ ԿԹՔ կենսունակության և ադիեզիայի հատկության դրսևորման վրա**

Ուսումնասիրելով նիտրատների (NaNO<sub>3</sub>, KNO<sub>3</sub>) ազդեցությունը ԿԹՔ՝ Լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկային շտամների աճման վրա՝ պարզվել է, որ շտամների մեծամասնության աճը ճշվում է NO<sub>3</sub>-ի բարձր խտությունների պայմաններում (≤2%) (Աղ. 3): Այն ժամանակ, երբ NaNO<sub>3</sub> և KNO<sub>3</sub> խտությունները եղել են 2-2.5%, շտամների մեծ մասը դադարել են աճել և արդյունքում ադիեզիայի հատկությունն չեն ցուցաբերել (Նկ. 4): Սակայն *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանել է կենսունակությունը նման պայմաններում, մինչդեռ ստրեպտոկոկային շտամներ *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M7-ը չեն աճել միջավայրում, որտեղ NO<sub>3</sub>-ի խտությունը եղել է ≤1% (Աղ. 3):

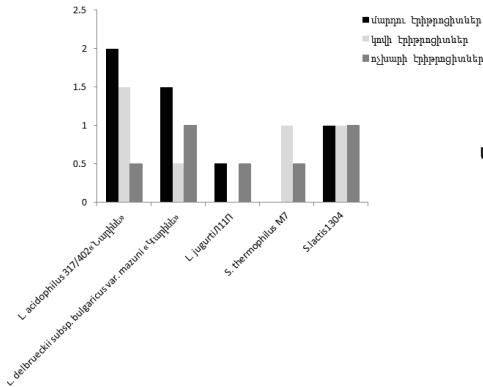
Աղ. 3 Լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկների աճը տարբեր խտության NO<sub>3</sub>-ի պայմաններում

ԿԹՔ տեսակներ, շտամներ	NO <sub>3</sub> -ի խտությունները (%)							
	NaNO <sub>3</sub>				KNO <sub>3</sub>			
	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0
<i>L.acidophilus</i> 317/402 «Նարինե»	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>L. delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>var. mazuni</i> «Կարինե»	+	+	+	-	+	+	-	-
<i>L. Jurgurti</i> <sub>1111</sub>	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>S. thermophilus</i> M <sub>7</sub>	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>S. lactis</i> 1304	+	+	-	-	+	-	-	-

\*(-) Նշանակում է աճ չկա

Չնայած նիտրատների բարձր խտություններին՝ ԿԹՔ երբեմն մակարդում են կաթը, բայց այդ մակարդները վերացանք կատարելուց հետո կաթը այլևս չեն մակարդում: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» և *L. delbrueckii subs. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամները նիտրատ պարունակող կաթում աճել իսցուցաբերել են արտահայտված հեմագլյուտինացիա մարդու Էրիթրոցիտների հետ՝ համեմատած կովի և ոչխարի (Նկ. 4): Միայն *S. thermophilus* M<sub>7</sub>-ում չի նկատվել որևիցե ռեակցիա մարդու Էրիթրոցիտների հետ փոխազդեցության ժամանակ: Պրոբիոտիկ ԿԹՔ ադիեզիայի հատկության նվազումը ուղիղ համեմատական է NO<sub>3</sub>-ի խտության բարձրացմանը: 2% (մոտ 4 անգամ ավելի) խտության հասնելիս ընկնում է ադիեզիայի ունակությունը (p<0.05) (Նկ. 4): Իսկ NO<sub>3</sub>-ի 2% խտության պայմաններում կովի և ոչխարի Էրիթրոցիտների հետ ընդհանրապես բացակայում է ադիեզիան (p<0.01):

Որոշվել է նաև թթվազոյացման ակտիվությունը ԿԹՔ աճման 7-րդ օրում տարբեր խտության (0.5-2.0%) NO<sub>3</sub>-ի առկայության պայմաններում: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի մոտ ստուգիչ կաթում 340°Թ թթվությունը NaNO<sub>3</sub> և KNO<sub>3</sub>-ի դեպքում իջել է համապատասխանաբար մինչև 80°Թ՝ 2% և 62°Թ՝ 1.5% խտությունների պայմաններում:



Նկ. 4 ԿԹԲ շտամների ադիեզիայի հատկությունը տարբեր խտություն NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ի կիրառման պայմաններում հեմալյունոտիսացիայի մեակցիայի միջոցով՝ մարդու, կովի և ոչ խարի արյան կարմիր բջիջների օգտագործմամբ:

Ուսումնասիրված լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկային շտամների մոտ նվազագույն թթվունթյունը գրանցվել է այս շտամում: Ի տարբերություն լակտոբացիլների՝ ստրեպտոկոկերում նկատվել է ավելի ցածր թթվունթյուն: *S. thermophilus* M7-ում NaNO<sub>3</sub> և KNO<sub>3</sub>-ի 1% խտություն դեպքում՝ 64 ու 66°Թ համապատասխանաբար, իսկ *S. lactis* 1304-ի մոտ NaNO<sub>3</sub>-ի 1% դեպքում՝ 54°Թ թթվունթյուն: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ Նիտրատների բարձր խտությունները (≤2%) ճնշում են երկու տեսակի ԿԹԲ՝ լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկերի աճը, սակայն համեմատած ստրեպտոկոկերի՝ լակտոբացիլները ցուցաբերում են ավելի բարձր դիմացկունություն և ադիեզիայի հատկություն:

**Նիտրատների ադիեզությունը *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե»-ի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվություն վրա**

Հետազոտության արդյունքում պարզվել է, որ *L. acidophilus*-ի թաղանթային բշտիկների ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը ճնշվում է տարբեր խտության (1, 1.5 և 2.0%) NaNO<sub>3</sub>-ի պայմաններում համեմատած ստուգիչի հետ (առանց NO<sub>3</sub> և ԴՑԿԴ), և այդ արգելակումը առավել արտահայտիչ է ԴՑԿԴ (0.1մՄ) առկայությամբ (Աղ. 4): NO<sub>3</sub>-ի խտության աստիճանական բարձրացումը, առավել ևս զուգակցումը ԴՑԿԴ-ի հետ, ուղեկցվում է ԱԵՖ-ազային ակտիվության ճնշմամբ: Կարելի է ենթադրել, որ այդ ժամանակ F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ի կառուցվածքում առաջանում են տարածական փոփոխություններ՝ ճնշելով ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը: Սակայն հետաքրքրությունը կայանում է նրանում, որ NaNO<sub>3</sub>-ի համեմատաբար ցածր խտությունների (1-1.5%) ժամանակ, pH 6.5-ում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն առավել ուժեղ է ճնշվում՝ համեմատած բարձր խտությամբ (2%):

Աղ. 4. NO<sub>3</sub>-ի տարբեր խտւթ յոլ ննեթրի, ինչ պե ս նա յՑԿԴ ադդեցոլ յոլ նը *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» ացիդոֆիլ պ ին բակտերիայ ի թաղանթայ ին բշտիկնեթրոլ մ ԱԵՑ-ազայ ին ակտիվոլ յոլ ն վրա: \*ԴՑԿԴ-զզայ ոլ ն ԱԵՑ-ազայ ին ակտիվոլ յոլ նը որոշվել Է ԴՑԿԴ-ով և առանց ԴՑԿԴ-ի նմոլ շ նեթրի տարբերոլ յոլ ամբ

Նմանատի պ տվյալ նեթր ստացվել Է ն նա KNO<sub>3</sub>-ի դեպքոլ մ (Harutyunyan et al., 2015): Համանաբար դա պայմանավորված Է պաշտպանական մեխանիզմնեթրով, որոնք-ակտիվանոլ մ Է ն բարձր խտւթ յոլ ն NO<sub>3</sub>-ի պայմաննեթրոլ մ: Ստացված տվյալ նեթրից կարել ի Է ենթադրել, որ F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ԱԵՑազը կարող Է հանդիսանալ թիրախնիտրատ իոննեթրի համար (KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>), նոլ Նիսկ նրանց ցածր խտւթ յոլ ն պայմաննեթրոլ մ:

**Պահպանիչ նեթրի ադդեցոլ յոլ նը ԿԹՔ զարգացման և ադդեզի պ ի վրա**

Ի տարբերոլ յոլ ն նիտրատնեթրի ադդեցոլ յոլ նը ԿԹՔ ադդեզի պ ի հատկոլ յոլ ն վրա, սորբի նաթթոլ ն թողնոլ մ Է

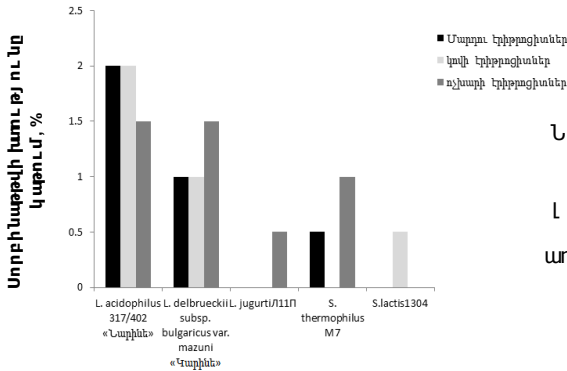
Աճման պարամետրեր	Օպտիկական խտւթյուն (OD)	ԴՑԿԴ-զզայուն ԱԵՑ-ազային ակտիվոլ յոլ ն* (մկՄ Ֆանոթգ/ր/մկգ սպիտակոլ ոց)
Control -NaNO <sub>3</sub> - ԴՑԿԴ	0.0087±0.0004	182.2±9.2
NaNO <sub>3</sub> 1%	0.0044±0.0003	92.17±5.4
NaNO <sub>3</sub> 1% + ԴՑԿԴ	0.00085±0.0003	17.85±1.1
NaNO <sub>3</sub> 1,5%	0.003±0.0001	63±3.8
NaNO <sub>3</sub> 1,5% + ԴՑԿԴ	0.0015±0.0001	15.6±0.8
NaNO <sub>3</sub> 2%	0.0035±0.0002	73.32±4.0
NaNO <sub>3</sub> 2% + ԴՑԿԴ	0.0009±0.00005	20±1.2
-NaNO <sub>3</sub> +ԴՑԿԴ	0.00086±0.00005	18.85±1.1

առավել արտաի պ տված ընկճող ադդեցոլ յոլ ն: Իրականացված հետազոտոլ յոլ ն արդյոլ նքնեթրը և ս մեկ անգամ հաստատոլ մ Է ն գրականոլ յոլ ն մեջ ավել ի վաղ ի հայտ եկած տվյալ նեթր պ ն մասին, որ սորբի նաթթվի ≤0.3% օզտագործոլ մը սննդի մեջ թողնոլ մ Է բակտերիոստատիկ ադդեցոլ յոլ ն, իսկ ավել ի բարձր խտւթ յոլ ն նեթրը՝ բակտերիոցիդ (Davidson et al., 2005): Կաթնաթթվայ ին սորեպտոկոկեթրի աճը ամբողջոլ յոլ ն ճնշվոլ մ Է սորբի նաթթվի 0.7-1.0%, իսկ ձողած և ԿԹՔ՝ 1.5-2.0% խտւթ յոլ ն նեթրի ժամանակ (Նկ.5):

Հաստատվել Է, որ սորբի նաթթվի 1.5-2.0% առկայոլ յոլ ն պայմաննեթրոլ մ բարձր դիմացկոլ նոլ յոլ ն Է ն ցոլ ցաբեթրոլ մ *Lactobacillus* ցեդի նեթրկայ ացոլ ցիչ նեթրը: Պետք Է նշել, որ բարձր խտւթ յոլ ն ամբ սորբի նաթթվի կիրառման ժամանակ ադդեզի պ գրանցվոլ մ Է մեծամասամբ ոչխարի Էրիթրոցիտնեթրի հեմազլոլ նտի նացի պ ի ռեակցի պ ի արդյոլ նքոլ մ: Կարել ի Է ենթադրել, որ որքան յոլ նրահատոլ կ Է ադդեզի պ ն շտամայ ին տեսակից կախված, այ նքան Էլ՝ արյոլ նից: *L. jugurti*<sub>110</sub>-ը մարդոլ և կովի արյան կարմիր բջիջ նեթրի հետ հեմազլոլ նտի նացի պ ի ժամանակ ընդհանրապե ս չի ցոլ ցաբեթրոլ մ ադդեզի պ և միայն



ոչ խստի դեպքում դրսևորում է ադիեզիայի հատկությունն՝ 0.5% սորբինաթթվի խտություն ան առկայություն պայմաններում: (Նկ. 3.6):



Նկ.5. 0.5-2.0% խտությամբ սորբինաթթվի ազդեցությունը և ակտոբակտերիաների և ստրեպտոկոկերի ադիեզիայի հատկություն վրա:

Ստրեպտոկոկային շտամներից՝ *S. thermophilus* M7-ի վրա սորբինաթթվի ընկճող ազդեցությունը ավելի թույլ է արտահայտված՝ համեմատած *S.lactis* 1304-ի հետ: Լակտոբացիլներից՝ *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամը ցուցաբերում է դիմացկունություն և բարձր ադիեզիայի հատկություն սորբինաթթվի 1-1.5% խտություներ ժամանակ, իսկ առավելագույն՝ 2%-ի ժամանակ ադիեզիացուցաբերում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը:

### ԵՂՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

- ԿԹԲ՝ և ակտոբացիլների և ստրեպտոկոկային շտամների մեծամասնություն մոտ ադիեզիայի հատկությունը ճնշվում է միջավայրի pH 8-ի պայմաններում, իսկ pH 6.5-ը սահմանվել է ադիեզիայի համար նպաստավոր պայման:
- Ուսումնասիրված շտամներից արտահայտված հակաբակտերիկական ակտիվություն ցուցաբերում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը՝ ճնշելով ինչպես գրամ-դրական, այնպես էլ գրամ-բացասական պատածին միկրոօրգանիզմների աճը և զարգացումը:
- Պայմանական պատածին էնտերոբակտերիաներում գերակշռում է ադիեզիվություն CFA II գործոնը, իսկ պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ում՝ CFA I գործոնը: Հաստատվել է նաև, որ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե», *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամները ունեն CFA I տիպի ադիեզիաներ, *S. lactis* 1304-ը՝ CFA II, իսկ *L. jugurti*, *S. thermophilus* M7 շտամները ունեն P տիպի ֆիմբրիաներ:
- L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը ցուցաբերում է բարձր դիմացկունություն և արտահայտված ադիեզիայի հատկություն և լեոմիցետոսի և էնտերոֆոնիլի  $\leq 0.004\%$ , իսկ էրիթրոմիցինի՝  $\leq 0.003\%$  խտություներ դեպքում: Առավել բարձր խտություներ դեպքում նկատվում է հակաբիոտիկի նկատմամբ զգայունություն մեծացում:

5. Բարձր խտության նիտրատների ( $\leq 2\%$ ) առկայության պայմաններում ճնշվում է նաև վակտոբացիլների, նաև ստրեպտոկոկների աճը, սակայն, համեմատած ստրեպտոկոկային շտամների, վակտոբացիլները ցուցաբերում են բարձր դիմացկունություն և ադիեզիայի հատկություններ, կովի և ոչ խաբի երիթրոցիտների հեմալյունոտիացման ռեակցիայի արդյունքում: Այդ պայմաններում նվազում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի թաղանթային բշտիկներում պրոտոնային FoF1-ԱէՖ-ազային ակտիվությունը:
6. Կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների փորձարկված շտամները ամբողջովին ճնշվում են սորբինաթթվի 0.7-1% խտությունների կիրառման ժամանակ՝ ցուցաբերելով թույլ արտահայտված ադիեզիայի հատկություն, իսկ վակտոբացիլները՝ 1.5-2.0%-ի:
7. ԿԹԲ, հատկապես *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը կարող է պայմանավորված լինել տարբեր գործոններով, նպատակ նրանց հակաբակտերիակալ ակտիվությանը և նիտրատների նկատմամբ կայունությանը՝ կարգավորելով ադեստամոքսային միկրոբիոտան:

#### **ԱՏԵՆԱԽՈՒԹՅԱՆ ԹԵՄԱՅՈՎ ՅՐԱՏԱՐԱԿԱՆ ԱՆԽԱՏԱՆՔԵՐԻ ՑԱԿ**

1. Յարուբյունյան Կ.Վ. Կոնսերվանտների ազդեցությունը կաթնաթթվային բակտերիաների զարգացման վրա // Առողջապահություն, 2010, N 4, էջ 8-10:
2. Յակոբյան Լ.Յ., Մելիք-Անդրեասյան Գ.Գ., Յարուբյունյան Ն.Մ., Յարուբյունյան Կ.Վ., Թաչունյան Ա.Յ., Յարուբյունյան Մ.Վ. Կենսաբանական բարձր հատկություններով օժտված պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների ստացումը // Յամաճարականության արդիական հարցեր, միջազգային կոնֆերանսի նյութեր, Երևան, 2013թ., էջ 22-26:
3. Յարուբյունյան Ն.Մ., Լալայան Ա.Ա., Ալեքսանյան Յու. Թ., Մելիք-Անդրեասյան Գ.Գ., Յարուբյունյան Կ.Վ., Թաչունյան Ա.Ա. Պայմանական պատածին Էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների ադիեզիվության համեմատական գնահատականը // Յայաստանի բժշկագիտություն, Երևան, 2015, LV, №2, էջ 48-52:
4. Յակոբյան Լ. Յ., Յարուբյունյան Ն. Մ., Յարուբյունյան Կ. Վ., ՅՅ ԳԱԱ թղթակից անդամ Ա. Յ. Թաչունյան Ավանդական հայկական կաթնամթերքներ՝ մածուկի, յուղորդի մանրէաբանական և ադիեզիվ հատկությունները // ՅՅ ԳԱԱ, 2եկունյցներ, Երևան, 2016, Յ 116, № 2, էջ 154-167:
5. Акопян Л.Г, Арутюнян М.В, Арутюнян К.В. Влияние нитратов на развитие молочнокислых бактерий // Актуальные вопросы эпидемиологии инфекционных болезней, материалы научно-практической конференции с международным участием, Ереван, 2009, с. 7-10.
6. Арутюнян М.В., Арутюнян К.В., Акопян Л.Г. Пробиотик “Нарине” как биодобавка для коррекции и лечения некоторых заболеваний // Второй международный симпозиум “Биофарма-2010 от науки к промышленности”, сборник тезисов, Ереван 17-20 мая 2010 г., с. 4-5.

7. Акопян Л.Г., Арутюнян М.В., Арутюнян К.В. Применение пробиотических молочнокислых бактерий для коррекции биоценоза желудочно-кишечного тракта // Известия Национального Аграрного Университета Армении, 1(41)2013, с. 101-105.
8. Арутюнян Н.М., Алексанян Ю.Т., Мелик-Андреасян Г.Г., Акопян Л.Г., Арутюнян К.В., Арутюнян М.В., Трчунян А.А. Способность адгезии и приживаемости пробиотика *L. acidophilus* Ер 317/402 "Наринэ" в пищеварительном тракте и слизистой оболочке толстого кишечника // Актуальные вопросы эпидемиологии, материалы научно-практической конференции с международным участием, Ереван, 2013, с 58-60.
9. Акопян Л. Г., Казарян П.А., Александрян М. А., Арутюнян К. В., Трчунян А. А.. Пробиотический штамм *Lactobacillus acidophilus* Ер 317/402 «Наринэ» с высокими адгезивными и антибиотическими свойствами и его применение при остром лейкозе у детей // Технологии живых систем, 2016, т. 13, №3, ст. 30-37.
10. Hakobyan L., Harutyunyan K., Harutyunyan N., Melik-Andreasyan G., Trchounian A. Adhesive Properties and Acid-Forming Activity of *Lactobacilli* and *Streptococci* Under Inhibitory Substances, Such as Nitrates // Current Microbiology 2016, V. 72, № 6, pp. 776-782.
11. Harutyunyan K.V. The influence of antibiotics on adhesive properties and survival of probiotic lactic acid bacteria // Scientific Medical Journal, 2015; 10:2, pp. 24-29.
12. Harutyunyan K.V., Soghomonian D.R., Hakobyan L.G., Trchounian A. Adhesive properties and the FoF<sub>1</sub> ATPase activity of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* 317/402 "Narine" // 3-rd International Scientific Conference of Young Researchers. Dialogues on Science. Book of abstracts, 2015 June 23-26, Yerevan, Armenia, p. 72.
13. Soghomonian D., Harutyunyan K., Trchounian A. The effects of antibiotics and different hostile conditions on survival and adhesion of probiotic lactic acid bacteria in vitro in model of human gastrointestinal tract // 6th Congress of European Microbiologists, 2015, 7-11 June, Maastricht, The Netherlands, FEMS- 1066.
14. Harutyunyan K.V., Hakobyan L., Trchounian A. Adhesive and antimicrobial properties of *Lactobacillus acidophilus* strain Er 317/402 "Narine" for its use in some types of blood cancer // FEBS Journal 281, Suppl. 1, 2014, Paris, pp. 728-729.
15. Harutyunyan K.V., Hakobyan L.H., Trchounian A.A. The Adhesive Properties and Hemolytic Activity of Probiotic Lactic Acid Bacteria // 2-nd International Scientific Conference of Young Researchers "Contribution of the Young Generation in the Development of Biotechnology", Book of Articles and Abstracts, October 1-4, 2013, Yerevan, Armenia, p. 73.

#### АРУТЮНЯН КАРИНЕ ВИКТОРОВНА

Адгезия пробиотических молочнокислых бактерий как регулирующий фактор нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта

#### РЕЗЮМЕ

**Ключевые слова:** *Lactobacillus acidophilus*, молочнокислые бактерии, лактобациллы, стрептококки, адгезия, антибактериальная активность, антибиотики, нитраты, консерванты, АТФазная активность.

Свойства молочнокислых бактерий (МКБ) к адгезии на слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта способствуют жизнеспособности штамма в

кишечнике и помогают конкурентным способом вытеснять потенциально-патогенные микроорганизмы (Kolida et al., 2011). Адгезивные свойства пробиотических бактерий были изучены на различных эпителиальных клетках, таких как Caco-2 или клетки Hela (Dmitrov, 2014; Ranadheera et al., 2014). Однако в литературе очень мало данных по исследованиям, сделанных по адгезии на эритроцитах, но именно этот факт позволяет говорить о новизне и сложности проделанной работы. У штамма *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ” впервые были изучены адгезивные свойства путем реакции гемагглютинации. Применяя эритроциты как объект исследования учитывался тот факт, что гликофорин, который располагается на их поверхности, идентичен гликокаликсу эпителиальных клеток, на которых присутствуют рецепторы бактериальной адгезии (Билалов и др., 2006). В ходе исследования при помощи скрининга был выделен штамм *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ”, обладающий наиболее сильными свойствами. Выявлено, что большинство изученных штаммов - *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ”, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* “Карине”, *L. jugurti*<sub>П11П</sub>, *S. lactis* 1304, *S. thermophilus* M7 – вызывают реакцию гемагглютинации эритроцитов, выявляя при этом высокие адгезивные свойства. Ни один из изученных штаммов не проявлял гемолитической активности. Для того, чтобы понять, действительно ли адгезивность обусловлена специфическими факторами колонизации (CFA), были исследованы адгезины МКБ. В результате исследования было выявлено, что штаммы *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ”, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* “Карине” имеют адгезины типа CFA I, штамм *S. lactis* 1304 имеет CFA II, а *L. jugurti*, *S. thermophilus* M7, имеют фимбрии типа P. Следовательно, разные штаммы, принадлежащие к одному и тому же роду, обладают разными типами адгезинов и, естественно, адгезивность становится строго штаммоспецифическим. Из изученных штаммов у штамма *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ” была замечена широкая зона подавления по отношению *B. subtilis* и *P.aeruginosa* и сравнительно низкая антагонистическая активность по отношению к *K. Pneumonia*, выявляя в среднем рост зоны подавления диаметром 17-23 мм. Позднее выяснилось, что сравнительно слабо выраженное антибиотическое воздействие большинства МКБ по отношению к *K. pneumonia*, обусловлено именно высокой степенью фактора колонизации адгезивности последних. В ходе исследования устойчивости МКБ по отношению к антибиотикам и влияния этих средств на адгезивную способность, был изолирован штамм *L. acidophilus* Ер 317/402 “Наринэ”, при разных концентрациях всех трех антибиотиков он показал высокие адгезивные свойства, что является важным предусловием для сохранения жизнеспособности бактерий при прохождении через желудочно-кишечный тракт. Кроме того, торможение роста МКБ по мере увеличения концентрации антибиотиков, позволяет предположить, что данный вид штамма не несет устойчивые к антибиотикам гены, которые передались бы патогенным микроорганизмам. Следовательно, штамм может всецело найти свое применение в качестве пробиотика в медицине, фармацевтике и производстве молочных продуктов (Meng et al., 2014). Высокая плотность ( $\leq 2\%$ )  $\text{NO}_3$

подавляет большинство бактериальных штаммов. Однако штамм *L. acidophilus* Er 317/402 “Наринэ” сохраняется в подобных условиях. Было показано, что нитраты подавляют АТФазную реакцию в мембранных везикулах штамма *L. acidophilus*. Надо отметить, что  $\text{NO}_3^-$  влияет также на ДЦКД-чувствительную часть АТФазной реакции, что свидетельствует о том, что мишенью действия этих веществ является  $\text{H}^+$  ионы транспортирующие  $\text{F}_0\text{F}_1$ -АТФазный комплекс, так как ДЦКД является характерным ингибитором для последнего. Из полученных данных можно предположить, что  $\text{F}_0\text{F}_1$ -АТФаза может стать мишенью для нитрат-ионов даже при низких концентрациях. Выяснилось, что штамм *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* “Карине” проявлял выносливость и высокие адгезивные свойства при высокой плотности сорбиновой кислоты, а при наивысшей плотности (2%) проявил адгезию штамм *L. acidophilus* Er 317/402 “Наринэ”, что делает возможным его применение в биотехнологии, медицине, ветеринарии и пищевой промышленности. Полученные результаты свидетельствуют, что штамм *L. acidophilus* Er 317/402 “Наринэ”, наделенный высокими адгезивными свойствами имеет важное прикладное значение и может использоваться как в профилактических, так и лечебных целях.

#### HARUTYUNYAN KARINE V.

Adhesion of probiotic lactic acid bacteria as a regulatory factor in the normal gastrointestinal microbiota

#### SUMMARY

**Key words:** *Lactobacillus acidophilus*, lactic acid bacteria, lactobacilli, streptococci, adhesion, antibacterial activity, antibiotics, nitrates, preservatives, ATPase activity.

The properties of the lactic acid bacteria (LAB) to adhere to the mucosa of the gastrointestinal tract promote viability of the strain in the intestine and helps to suppress of potentially pathogenic microorganisms by competitive manner (Kolida et al., 2011). Adhesive properties of probiotic bacteria have been studied on various epithelial cells such as Caco-2 or Hela cells (Dmitrov, 2014; Ranadheera et al., 2014). However, in literature it is very few data on the study of adhesion on red blood cells, but this fact suggests the novelty and complexity of the work. In strain of *L. acidophilus* Er 317/402 "Narine" was first investigated adhesive properties by reaction of hemagglutination. Applying erythrocytes as an object of study is based on the fact that glycophorin which is located on the surface is identical to glycocalyx of epithelial cells, where the receptors for bacterial adhesion are located (Билалов и др., 2006). During investigation the strain of *L. acidophilus* Er 317/402 “Narine”

possessing the highest properties was isolated by means of screening. It was revealed that the most of the studied strains, inclusive *L. acidophilus* Er 317/402 "Narine", *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* "Karine", *L. jugurti* П11п, *Streptococcus lactis* 1304, *S. thermophilus* M7, cause a reaction of hemagglutination of erythrocytes and by that demonstrating high adhesive properties. None of the investigated strains had a hemolytic activity. To understand whether the adhesiveness is due to specific adhesion colonization factors (CFA) of strains, the adhesins of LAB were investigated. It was revealed that the strains as *L. acidophilus* 317/402 "Narine", *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* "Karine" had CFA type I adhesins, *S. lactis* 1304 - CFA type II and *L. jugurti*, *S. thermophilus* M7 strains had P type fimbriae. Hence, the different strains belonging to the same genus, have different types of adhesins and, naturally, the adhesiveness becomes strictly strain specific. Of the tested strains, the *L. acidophilus* 317/402 "Narine" strain showed wide-range suppression zone against *B. subtilis* and *P. aeruginosae* (27mm) and relatively low antagonistic activity against *K. pneumoniae* (17-23mm suppression zone). Later it became clear that relatively weak antibacterial activity of majority of LAB against *K. pneumoniae* is due to the existence of high quantity CFA in above mentioned bacteria. During investigations of LAB resistance against antibiotics and the adhesive properties under the influence of mentioned substances the *L. acidophilus* Er 317/402 "Narine" strain was isolated, with different concentrations of three antibiotics showed high adhesive properties, which is an important precondition for preserving the viability of the bacteria when passing through gastrointestinal tract. In addition, inhibition of bacterial growth with increasing concentrations of antibiotics suggesting that this type of strain does not carry antibiotic resistance genes which were transferred to the pathogenic microorganisms. Consequently, the strain may find application entirely as a probiotic in medicine, pharmaceutical production and dairy products (Meng et al., 2014). The high concentration of  $\text{NO}_3$  ( $\leq 2\%$ ) suppressed the majority of bacterial strains. However, *L. acidophilus* Er 317/402 "Narine" strain survived in similar conditions. It was shown that the nitrates inhibited the ATP-ase reaction taking place in membrane vesicles of *L. acidophilus*. It should be noted that  $\text{NO}_3$  influence on DCCD-sensitive part of ATPase reaction, which indicates that the target of action of these substances is  $\text{H}^+$  ions transporting  $\text{FoF}_1$ -ATPase complex, since DCCD inhibitor is characteristic for the latter. From the obtained data it can be assumed that  $\text{FoF}_1$ -ATP-ase complex might be a target for nitrate ions ( $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaNO}_3$ ) even at low concentrations. It was revealed that *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* "Karine" strain showed resistance and high adhesive properties at high concentrations of sorbic acid. In maximal concentration (2%) the *L. acidophilus* 317/402 "Narine" strain demonstrated adhesion; this makes possible its use in biotechnology, medicine, veterinary and dairy production. The results indicate that *L. acidophilus* 317/402 "Narine" strain endowed with high adhesion properties has an important practical importance and it can be used in prophylactic and therapeutic purposes.