

ՀՀ ԿՐԹՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԳԻՏՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Հարուժ յոՒնյ ան Կարիւնէ Վիկտորի

Պրոֆիոտիկ կարճնարթւայ ինքնակտերիաների
ադիեզիան որպէս աղեստամոքսային համակարգի
բնականոն միկրոֆիոտայի կարգավորիչ գործոն

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.07- «Միկրոֆիոլոգիա. կենսատէխնոլոգիա» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությոՒնների թեկնածուի
գիտական աստիճանի համար

Գիտական ղեկավար՝
ՀՀ ԳԱԱ թղթակից անդամ,
Կենս. գիտ. դոկտոր, պրոֆեսոր
Ա. Հ. Թռչնոյն

ԵՐԵՎԱՆ 2016

ԱՇԽԱՏԱՆՔՈՒ Մ ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՀԱՊԱՎՈՒ ՄՆԵՐԸ

- μ - աճ ման տեսակարար արագություն
- F_1 - պրոտոնային ԱԵՖազային համալիրի ԱԵՖազը
- F_0 - պրոտոնային ԱԵՖազային համալիրի լիպոպրոտեինը
- ԱԲՄ - արտաք շաղկապի մատրիքս
- ԱԵՖ - ադենոզին-5'-ենոֆոսֆատ
- ԱԵՖազ - ադենոզին-5'-ենոֆոսֆատազ
- ԱԿՖ - ադենոզինկրկնաֆոսֆորաթթու
- ԱՄՑ - ադիեզիայի միջին ցուցանիշ
- ԴՆԹ - դեզօքսիռիբոնուկլեինաթթու
- ԴԹՏ - դիթիոտրեիտոլ
- ԴՑԿԴ - N, N' -դիցիկլոհեքսիլկարբոդիիմիդ
- ԴՕԽ - դեզօքսիտոլատ
- ԵԶԶ - ենթլորքացախաթթու
- ԷԴՏԶ - Էթիլ ենդիամինտետրաքացախաթթու
- ԻԼ - ինտերլեյն
- ԼԹԹ - լիպոթեյնոլաթթու
- ԿԹԲ - կաթնաթթվային բակտերիաներ
- ՀՄԱ - հակամանրէային սպիտակուց
- ՄՌԾ - դեման, Ռոգոզա, Շարփ
- ՆԱԴԻ - նիկոտինամիդադենիլնուկլեոտիդ
- ՊԾՌ - պոլիմերազային շղթայակառուցիչ
- ՌՆԹ - ռիբոնուկլեինաթթու
- ռՌՆԹ - ռիբոսոմային ռիբոնուկլեինաթթու
- տՌՆԹ - տրանսպորտային ռիբոնուկլեինաթթու
- ՕԽ - օպտիկական խողովակ
- ՖԷՊ:ՖՏՀ - ֆոսֆոէնոլպիրուվատ-կախյալ ֆոսֆոտրանսֆերազային համակարգ
- CFA- հակաճինների գաղութացնող գործոններ (colonization factors antigens)
- MDC - մանրէների ավանդադրման կենտրոն (Microbial Depository Center)

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ԱՇԽԱՏԱՆՔՈՒՄ ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐԸ	2
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ	6
ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ	11
1.1. Կաթնաթթվային բակտերիաների ընդհանուր բնութագիրը և տարածվածությունը	11
1.2. ԿթՖ դասակարգումը	13
1.3. ԿթՖ նյութափոխանակությունը	15
1.4. <i>Lactobacillus acidophilus</i> տեսակի ընդհանուր բնութագիրը և առանձնահատկությունները	20
1.4.1. Պրոբիոտիկների ազդեցության մեխանիզմները: <i>L.acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե» շտամի բնութագրումը որպես պրոբիոտիկ	21
1.4.2. <i>L. acidophilus</i> -ի պրոտոնային ԱԵՖ-ազիկառուցվածքը և գործառնությունը նշանակությունը	26
1.5. Հակաբիոտիկների ընդհանուր բնութագիրը և դասակարգումը ըստ ազդեցության մեխանիզմի	28
1.5.1. Հակաբիոտիկների նկատմամբ բակտերիաների կայունության մեխանիզմները	33
1.6. Նիտրատների ազդեցությունը մարդու առողջության վրա	36
1.7. Պահպանիչները կաթնամթերքներում: Սորբինաթթուն (E200) որպես պահպանիչ	41
1.7.1. Սորբինաթթվի ազդեցության մեխանիզմները	43
1.8. ԿթՖ ադիեզիան աղիքային լորձաթաղանթին	44
1.8.1. Ադիեզիայի մեխանիզմները: Ադիեզիններ	48
1.9. Լակտոբակտերիաների մակերեսային S-շերտի սպիտակուցներ	51
ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ	54

2.1. Բակտերիաներ, սննդամիջավայրեր և ռեակտիվներ	54
2.2. ԿթՖ աճեցումը	57
2.3. ԿթՖ երկարատև պահպանումը	57
2.4. ԿթՖ աճման տեսակարար արագություն ունեցող մը	58
2.5. ԿթՖ թթվայնություն ունեցող մը ըստ թյունների (⁰ Թ) աստիճանի ...	59
2.6. ԿթՖ ադիեզիայի հատկություն ու սուբստանսիություն ունեցող ադիեզիաների ունեցող մը	59
2.7. ԿթՖ հակաբակտերիական ակտիվություն ու սուբստանսիություն	60
2.8. ԿթՖ զգայունություն ունեցող մը հակաբիոտիկների նկատմամբ	61
2.9. ԿթՖ զարգացման վրանի տրանսների ադեցություն ունեցող մը	62
2.10. Սորբինաթթվի ադեցություն մը ԿթՖ զարգացումը	62
2.11. ԿթՖ «ուղիղ» թաղանթային բշտիկների ստացումը	62
2.11.1. Սպիտակուցի ունեցող մը Լոուրիի մեթոդով	63
2.11.2. Բակտերիաների թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվություն ունեցող մը	64
2.12. Փորձերի արդյունքների մշակումը	65
ԳԼՈՒԽ 3. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ	
3.1. <i>L. acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճման տեսակարար արագություն և աճի ընթացքում pH-ի փոփոխությունները	66
3.2. Պրոբիոտիկ ԿթՖ ադիեզիան և հեմոլիտիկ հատկություն ունեցող: Ադիեզիան միջավայրի pH 6.5 և pH 8- ում	69
3.3. ԿթՖ հակաբակտերիական ակտիվություն ու սուբստանսիություն	72
3.3.1. Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿթՖ ադիեզիվություն ունեցող համեմատական գնահատականը	74
3.4. Պրոբիոտիկ ԿթՖ կայունություն ունեցող հակաբիոտիկների նկատմամբ	76
3.4.1. Հակաբիոտիկների ադեցություն ունեցող ԿթՖ թթվառաջացման հատկություն ու վրա.....	78
3.4.2. Հակաբիոտիկների ադեցություն ունեցող ԿթՖ ադիեզիայի հատկություն ունեցող վրա.....	80
3.5. Նիտրատների ադեցություն ունեցող պրոբիոտիկ ԿթՖ կենսոսնակություն և ադիեզիայի հատկություն ունեցող դրսևորման վրա.	84

3.5.1. Նիտրատների ազդեցությունը ԿԹԲ թթվառաջացման ակտիվության գնահատումը	87
3.5.2. Նիտրատների ազդեցությունը <i>L. acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե»-ի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվության վրա	90
3.6. Պահպանիչների ազդեցությունը ԿԹԲ զարգացման վրա.....	91
3.6.1. Սորբիտաթթվի ազդեցությունը պրոբիոտիկ ԿԹԲ արհեստական հատկության վրա.....	93
ԱՄՓՈՓՈՒՄ.....	98
ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ	104
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ	106

ՆԵՐԱՃՈՒԹՅՈՒՆ

Թեմայի արդիականությունը: Վերջին տարիներին նկատվում է հարաճուն հետաքրքրություն այսպես կոչված գործառույթային սննդամթերքների նկատմամբ: Համարվում է, որ նման սննդամթերքների օգտագործումը նվազեցնում է մի շարք բրոնիկալ հիվանդությունների առաջացման հավանականությունը, ինչպես նաև հնարավոր վարակային հիվանդությունների զարգացումը (Aziz et al., 2012): Նման սննդամթերքների դասին են պատկանում պրոբիոտիկները և պրեբիոտիկները, որոնք ոչ միայն նվազեցնում են զանազան հիվանդությունների առաջացման հավանականությունը, այլ նաև նպաստում են օրգանիզմի իմունային համակարգի, դիմադրողականության բարձրացմանը (Pepoyan and Trchounian, 2009): Պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների (ԿԹԲ) օգտագործումը բարելավում է մարսողական համակարգի գործունեությունը, նվազեցնում աղիների պատի թափանցելիությունը՝ խոչընդոտելով ախտածին միկրոօրգանիզմների թափանցումը (Song et al., 2015): Բացի ընդունված կենսաբանական, կենսաքիմիական և ֆիզիկոքիմիական հատկություններից կարևոր նշանակություն ունի նաև կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաների ադիեզիայի հատկությունը՝ ընդունակությունը պահպանվելու, բնակվելու մարսողական համակարգի և հաստ աղիքի լորձաթաղանթում: Միկրոօրգանիզմների ադիեզիան աղեստամոքսային համակարգի էպիթելային բջիջների մակերեսին հաջող նախապայման է նրանց հետագա գաղութացման և մի շարք կարևոր կենսական գործառնությունների իրականացման համար (Tremaroli and Bäckhed, 2012): Վարակային հիվանդությունների զարգացման առաջնային փուլ է հանդիսանում լիզանդ-ռեցեպտորային փոխազդեցությունը, որը պայմանավորված է միկրոօրգանիզմների ադիեզիայով մակրոօրգանիզմի զգայուն բջիջներին: Հետևաբար, ԿԹԲ ադիեզիայի ուժգնությունը էպիթելային բջիջներին ունի որոշիչ նշանակություն ախտածին միկրոօրգանիզմների դեմ պայքարում կիրառվող պրոբիոտիկների արդյունավետության համար (Pepoyan and

Trchounian, 2009): Այսպիսով, բժշկության և կենսատեխնոլոգիայի կարևորագույն խնդիրներից է բարձր ադիեզիայի հատկությամբ օժտված պրոթիոտիկ ԿԹՔ շտամների անջատումը (Воробьев и.т.д., 2006): Միկրոօրգանիզմների ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության օբյեկտ են հանդիսանում էպիթելային բջիջները, էրիթրոցիտները, լեյկոցիտները, անօրգանական մակերեսները և այլն: Սակայն անհրաժեշտ է ընտրել կաթնաթթվային պրոթիոտիկ բակտերիաների այնպիսի շտամներ որոնք արտահայտված ադիեզիայի հատկության հետ միաժամանակ կցուցաբերեն նաև կայունությունն արտաքին, վնասակար նյութերի ազդեցության պայմաններում: Այդպիսի նյութեր կարող են հանդիսանալ սննդի միջոցով օրգանիզմ ներթափանցած պահպանիչները, նիտրատները, հակաբիոտիկները, պեստիցիդները, հերբիցիդները և այլն:

Ելնելով վերոհիշյալից՝ կարևոր է ադիների տարաբաշխումը պրոթիոտիկ կաթնաթթվային և բիֆիդոբակտերիաներով, ինչը կնպաստի ադիների բնականոն միկրոէկոլոգիայի՝ միկրոբիոտայի ձևավորմանը (Hsiao et al., 2013):

Այդ պատճառով հետաքրքիր էր ուսումնասիրել և ընտրել արտահայտված ադիեզիայի հատկությամբ օժտված պրոթիոտիկ ԿԹՔ շտամներ, որոնք կպահպանեն իրենց հատկությունները մի շարք անցանկալի նյութերի ազդեցության ներքո՝ դրանով իսկ նպաստելով բնականոն ադիքային միկրոբիոտայի ձևավորմանը: Ինչպես կանխարգելիչ, այնպես էլ բուժման նպատակներով ընտրել արդյունավետ ԿԹՔ շտամներ և հիմնավորել նրանց ազդեցությունը կենսաբիոտայի ախտածին միկրոօրգանիզմների զարգացումը կանխելու և նրանց կողմից արտադրած թույնները չեզոքացնելու գործում:

Ուսումնասիրության նպատակներն ու խնդիրները: Տվյալ աշխատանքի նպատակն էր ուսումնասիրել պրոթիոտիկ ԿԹՔ ադիեզիայի հատկությունը, ինչպես նաև տարբեր խտության ընկճող նյութերի կիրառման պայմաններում նրանց կենսունակության և ադիեզիայի հատկության փոփոխությունները:

Հետազոտությունների իրականացման համար առաջադրվել են հետևյալ խնդիրները.

1. Ուսուլմնասիրել տարբեր խտությամբ նիտրատների (NaNO_3 , KNO_3), պահպանիչների (սորբինաթթու), հակաբիոտիկների (լևոմիցետին, էրիթրոմիցին, էնտերոֆոլիլ) ազդեցությունը ԿԹՔ տարբեր ցեղերին պատկանող շտամների կենսունակության, թթու առաջացման և կենսաթաղանթների գործառական ակտիվության վրա:
2. Ուսուլմնասիրել ԿԹՔ հակաբակտերիական ակտիվությունը: Ներկայացնել պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹՔ ադիեզիվության համեմատական գնահատումը:
3. Ուսուլմնասիրել տարբեր խտությամբ նիտրատների (0.5-2%) առկայության պայմաններում մակարդված ԿԹՔ շտամների ադիեզիայի հատկությունը, մշակել միջոցներ՝ կանխելու կենսացենոզում նիտրատների տրանսֆորմացիան նիտրիտների և նիտրոզոամինների:
4. Բացահայտել տարբեր խտությամբ նիտրատների (0.5-2%), ինչպես նաև նիտրատների և *N,N'*-դիցիկլոհեքսիլ կարբոդիմիդի (ԴՑԿԴ) զուգակցված ազդեցությունը *Lactobacillus acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվության վրա՝ առաժման միջավայրի pH 6.5-ի պայմաններում:
5. Ուսուլմնասիրել տարբեր խտությամբ (0.001-0.004%) տարատեսակ հակաբիոտիկների ազդեցությունը ԿԹՔ ադիեզիայի հատկության վրա և բացահայտել լակտոբացիլների ու ստրեպտոկոկերի կենսունակության և ադիեզիվության առանձնահատկությունները այդ նյութերի առկայության պայմաններում:
6. Որոշել տարբեր խտությամբ (0.2-2%) պահպանիչների (սորբինաթթու) կիրառման պայմաններում ԿԹՔ կենսունակության և ադիեզիայի հատկության փոփոխությունները:
7. Ընտրել նիտրատների, հակաբիոտիկների, պահպանիչների առկայության պայմաններում բարձր ադիեզիայի հատկությամբ օժտված ԿԹՔ շտամներ, որոնք կարող են կիրառվել կաթնարդյունաբերության տարբեր բնագավառներում, դեղագործական ոլորտում, բժշկության մեջ՝ ադեստամոքսային

հիվանդությունների հարուցիչների զարգացումը ճնշելու և նիտրատների տրանսֆորմացիան կենսացենոզում կանխարգելելու համար, կենսատեխնոլոգիայի բնագավառում:

Աշխատանքի գիտական նորույթն ու գիտագործնական

նշանակությունը: Տվյալ աշխատանքի ընթացքում ուսումնասիրվել է տարբեր ցեղերին պատկանող պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունը մարդու, խոշոր և մանր եղջերավոր կենդանիների արյան կարմիր բջիջների հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով: Դա կարևոր հատկություն է աղեստամոքսային համակարգում էպիթելային բջիջներին ամրանալու միջոցով աղիներում շտամի կենսունակության և մրցակցային կերպով հնարավոր ախտածին մանրէների ճնշման համար: Առանձնացվել են արտահայտված ադիեզիայի հատկությամբ ԿԹԲ շտամներ, որոնք միաժամանակ օժտված են նաև բավականին բարձր հակաբակտերիական ազդեցությամբ մի շարք ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ, ինչը հեռանկարային է դարձնում լակտոբակտերիաների կիրառությունը բժշկության մեջ՝ աղեստամոքսային և վարակային հիվանդությունների բուժման ժամանակ: Այս երկու հատկությունների միաժամանակյա դրսևորումը էլ ավելի արժեքավոր է դարձնում ԿԹԲ հիման վրա ստացված մերանների կիրառումը արտադրական և բժշկական ոլորտներում:

Բազմաթիվ հեղինակների կողմից ուսումնասիրվել է պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիան տարբեր էպիթելային բջիջների վրա, ինչպիսիք են Caco-2 կամ HeLa բջիջները, սակայն էրիթրոցիտների վրա կատարված հետազոտությունները գրականության մեջ սակավաթիվ են, ստացվել են նոր արդյունքներ և կարելի է նշել, որ դրանում է կայանում կատարված աշխատանքի նորույթը: Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը ընկճող նյութերի ազդեցությամբ՝ հեմագլյուտինացման ռեակցիայով:

Կարևոր նշանակություն ունի աղիների հիմնային pH-ում ԿԹԲ ակտիվության պահպանումը: pH 8-ի պայմաններում *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանել է իր կենսունակությունը և ադիեզիայի հատկությունը:

Հաշվի առնելով հակաբիոտիկների լայն կիրառությունը սննդի արդյունաբերության և ժամանակակից բժշկության մեջ՝ արդիական խնդիր է հանդիսանում հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն ԿԹՔ շտամների անջատումը, որոնք կպահպանեն իրենց կենսունակությունը և ադիեզիայի հատկությունը տվյալ նյութերի առկայությամբ: Տարբեր խտության (0.001-0.004%) հակաբիոտիկների (լևոմիցետին, էրիթրոմիցին, էնտերոֆոլիլ) առկայության պայմաններում ԿԹՔ ադիեզիայի հատկության նվազումը ուղիղ համեմատական է հակաբիոտիկների խտության բարձրացմանը: Դառնի կարևոր նշանակություն, քանի որ խտության բարձրացմանը զուգընթաց մեծանում է հակաբիոտիկի նկատմամբ բակտերիաների զգայունությունը, հետևաբար նվազում է ադիբային միջավայրում կայունության գենետիկական հիմքերի հորիզոնական տեղափոխման հավանականությունը: Միաժամանակ ընկնում է ԿԹՔ թթվառաջացումը, որը ևս համարվում է կարևոր գործոն հատկապես կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ՝ վերջիններիս օրգանոլեպտիկ հատկությունների պահպանման համար:

L. acidophilus Ep 317/402 «Նարինե» շտամի կայունությունը նիտրատների և սորբիտաթթվի բարձր խտությունների նկատմամբ հնարավորություն է տալիս սննդի ընդունման ժամանակ որոշ չափով չեզոքացնել 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՝ *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* var. *bulgaricus* var. *mazuni*, *Lactobacillus jugurti*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* (5 շտամ) խմորման ուժգնության և ադիեզիայի հատկության վրա:
2. Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹՔ ադիեզիվության համեմատական գնահատումը CFA I (CFA-

colonization factors antigens) և CFA II ադիեզիվոլթյան գործոնների միջոցով:

3. *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը հակաբակտերիական ակտիվոլթյան և նիտրատների նկատմամբ կայունությունն ապահովման մեջ:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1. Կաթնաթթվայ ին բակտերիաների ընդհանուր բնույթագիրը և տարածվածությունը

Կաթնաթթվայ ին բակտերիաները (ԿԹԲ) գրամ-դրական, կատալազ-բացասական, սպոր չառաջացնող, աերոտոլերանտ կոկեր կամ ձողեր են, որոնք հիմնականում արտադրում են կաթնաթթու՝ որպես ածխաջրերի խմորման գլխավոր վերջանյութ: Ծնորհիվ մեծ քանակությամբ արտադրված կաթնաթթվի, ինչի նկատմամբ մեծամասամբ տոլերանտ են, ԿԹԲ համապատասխան պայմաններում ընդունակ են բավականին արագ բազմանալ՝ տեղահանելով մյուս միկրոօրգանիզմներին: ԿԹԲ աղեստամոքսային ուղիում խմորում են ածխաջրերը առաջացնելով կարճ շղթա ունեցող ճարպաթթուներ, որոնց մոլեկուլում առկա է 2-ից 8 ածխածնի ատոմ (քացախաթթվային, պրոպիոնաթթվային, կաթնաթթվային, կարագաթթվային և այլն) (Macfarlane and Macfarlane, 2003; Hayek and Ibrahim, 2013):

Բազմաթիվ ԿԹԲ աճում են ոչ միայն անաէրոբ պայմաններում, այլև նաև մոլեկուլային թթվածնի առկայությամբ: Սակայն նման պայմաններում տեղի չի ունենում խմորման գործընթացի փոխարինում աերոբ շնչառությամբ և չի փոխվում ադենոզին-5'-ենոֆոսֆատի (ԱԵՖ) սինթեզման ուղին (միայն սուբստրատային ֆոսֆորիլացման շնորհիվ): Այդ իսկ պատճառով ԿԹԲ դասվում են աերոտոլերանտ միկրոօրգանիզմների դասին: Վերջիններս չեն պարունակում նաև հեմոպրոտեիններ (ցիտոքրոմներ, կատալազ): Իսկ թթվածնի մոլեկուլ պարունակող միացություններից (օր.՝ H_2O_2) ԿԹԲ պաշտպանվում են պերօքսիդազայի շնորհիվ (Michaela et al., 2009):

ԿԹԲ բնորոշ առանձնահատկությունը դասափրտադիմացկունությունն է: Որոշ տեսակներ ընդունակ են աճել 15-18%, իսկ որոշները ընդհուպ մինչև 24% էթանոլ պարունակող սննդամիջավայրերում (Line et al., 2008; Hadji et al., 2012):

ԿԹԲ բնորոշ մյուս առանձնահատկությունը ցածր pH-ի պայմաններում գոյատևելու հատկությունն է: Կան տեսակներ, որոնք աճում են 2.9-3.2 pH-ի պայմաններում: Որոշ հեղինակներ գտնում են, որ բակտերիական բջջի թաղանթի լիպիդային կազմը

ծնափոխվում է ցածր pH-ի և լեղու ազդեցությամբ (Quinto et al, 2014): Միկրոօրգանիզմները հետազոտության ներքին շրջանում, որ *Lactobacillus reuteri* տեսակի մոտ թթվային սթրեսից հետո տեղի է ունենում գլիցերոֆոսֆատազայի ակտիվացում, իսկ *L. acidophilus*-ի մոտ՝ թթվի նկատմամբ զգայունության բարձրացում (Klaenhammer et al., 2005): Արտաբջջային լիպոպոլիսախարիդները նույնպես նպաստում են թթվայինությանը, բայց վերջիններիս դերը դեռևս լավ պարզաբանված չէ (Morelli et al., 2012): Սակայն կան տեսակներ, որոնք աճում են նաև pH 5.5-8.8-ի պայմաններում:

ԿԹԲ հիմնականում համարվում են մեզոֆիլներ, որոնց աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճանը 30-40°C է, սակայն կան նաև թերմոֆիլներ, որոնք աճում են 50°C և ավելի բարձր ջերմաստիճաններում, ինչպես նաև պսիխրոֆիլ տեսակներ՝ մինչև 3°C:

ԿԹԲ ինքնուրույն չեն սինթեզում վիտամիններ և ամինաթթուներ, այդ իսկ պատճառով չեն հանդիպում ո՛չ հողում, ո՛չ ջրում: Վերջիններս աճում են սպիտակուցների ֆերմենտային կամ թթվային հիդրոլիզատներում, ամինաթթուների հատուկ խառնուրդներ պարունակող սննդամիջավայրերում (Hettrycov, 2005; Sica et al., 2010): Այս միկրոօրգանիզմների բնական միջավայր են հանդիսանում բույսերը և բուսական մնացորդները:

ԿԹԲ-ից լակտոբակտերիաների համար աճման օպտիմալ միջավայր է հանդիսանում կաթը: Կաթնամթերքներից բացի ԿԹԲ՝ գոյություն ունենալով մարդու և կենդանիների տարբեր օրգան-համակարգերում (մաշկ, աղեստամոքսային և սեռական ուղիների լորձաթաղանթներ և այլն), կատարում են պաշտպանական և սննդառության բացառիկ կարևոր դեր՝ մասնակցելով նյութափոխանակության բազմաթիվ գործընթացներին (Hooper and Macpherson, 2010; Kamada et al., 2013):

Գտնում են նաև, որ միկրոօրգանիզմների անցումը հողից և բույսերից կենդանիների աղեստամոքսային համակարգ ունի գենետիկական հարմարման երեք շրջան՝ կայունություն տիրոջ օրգանիզմի խոչընդոտներին, աղիքային բջիջներին ադիեզվելու ընդունակություն և աղեստամոքսային համակարգում որոշ սուբստրատների խմորման ընդունակություն (Lebeer et al., 2008):

Այսպիսով, ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունները՝ ունակությունները ամրանալու և գաղութացվելու տիրոջ ադիբային էպիթելին, հանդիսանում է անհրաժեշտ և կարևոր պայման այս միկրոօրգանիզմների նկարագրման ժամանակ: ԿԹԲ որոշ տեսակներ շնորհիվ ադիեզիայի և միջարքայի հատկությունների դասվում են պրոբիոտիկների խմբին, որոնք լայն կիրառություն ունեն բժշկության, անասնաբուժության և միջարքայի բնագավառներում (Madsen et al., 2001; Sugimura et al., 2011):

Տարբեր էկոլոգիական պայմաններից մեկուսացված ԿԹԲ կուլտուրալ, ֆիզիոլոգիական, կենսաբանական, կենսաքիմիական և գենետիկական առանձնահատկությունների խորը ուսումնասիրությունները հնարավորություն են տալիս ընտրելու կաթնարտադրության համար արժեքավոր տեսակներ (Гудков, 2003):

1.2. ԿԹԲ դասակարգումը

ԿԹԲ ժամանակակից դասակարգման հիմք է հանդիսացել Օրլա-Յենսենի (Orla-Jensen, 1919) հրատարակված մենագրությունը, որտեղ օգտագործվել են հետևյալ չափորոշիչները՝ մորֆոլոգիական (կոկեր, ձողեր կամ տետրադ բջջային ձևեր), գլյուկոզի խմորման եղանակը (հոմո- կամ հետերոֆերմենտային), աճման ջերմաստիճանային սահմանները (օր.՝ 10°C և 45°C), սինթեզվող կաթնաթթվի իզոմերների (L- կամ D-կաթնաթթու) որոշումը և տարբեր ածխաջրեր յուրացնելու ունակությունը (Orla-Jensen, 1919; Kenji et al., 2009): Յեղիսակը ԿԹԲ բաժանել է 4 հիմնական ցեղերի՝ *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* և *Streptococcus*: «Կաթնաթթվային բակտերիաներ» տերմինն առաջին անգամ օգտագործվել է նրա կողմից 20-րդ դարում՝ «կաթն թթվեցնող» օրգանիզմներին նկարագրելու նպատակով:

ԿԹԲ դասակարգումը առաջարկվել է նաև Լոնիսի կողմից (Lohnis, 1910), որի հիմքում ընկած առանձնահատկությունները բխում էին ելնելով գուտ տրամաբանական նկատառումներից՝ չհիմնվելով բակտերիաների գենետիկական փոխարարությունների վրա:

Ռուս գիտնականներից Կոռոլյովը 1932 թվականին (Королев, 1932) առաջարկեց «ԿԹԲ կիրառական դասակարգման սխեման», որը մինչև այժմ արդիական է և օգտագործվում է կաթնարդյունաբերությամբ

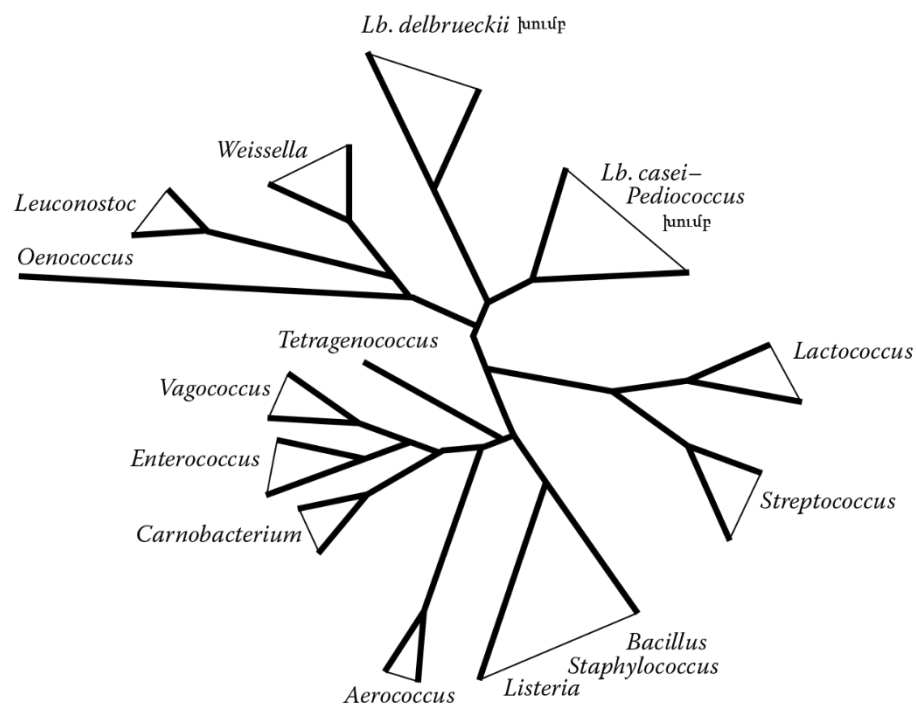
գբադվողների կողմից: Սակայն առաջարկված համակարգի հիմնական թերությունը հանդիսանում է դասակարգվող միկրոօրգանիզմների ֆիզիոլոգիական գործունեության կենսաքիմիական մակարդակով ուսումնասիրության բացակայությունը:

Չնայած Օռլա-Յենսենի կողմից օգտագործված հատկանիշները մինչ այժմ կարևոր դեր են կատարում ԿԹԲ դասակարգման մեջ, սակայն դրանք տալիս են զուտ նախնական ինֆորմացիա տվյալ միկրոօրգանիզմի կարգաբանական վիճակի մասին և հաճախ թույլ չեն տալիս ճշգրիտ դասել տեսակը որոշակի խմբին: Այդ պատճառով միկրոօրգանիզմների առավել ստույգ նույնականացման համար ժամանակակից դասակարգումը օգտագործում է նաև բազմատեսակ մոլեկուլային, ֆենոտիպային, ֆիլոգենետիկական և գենետիկական (16S և 23S ռիբոսոմային ռիբոնուկլեինաթթու (ռՌՆԹ), ԴՆԹ-ԴՆԹ) մեթոդներ (Schleifer and Ludwig, 1995; Song et al., 2000; Buddhiman et al., 2008; Singh et al., 2009; Saito et al., 2011): Այժմ հնարավորություն է ստեղծվել որոշել բակտերիական ռՌՆԹ-ի ավելի երկար հաջորդականությունները (ռՌՆԹ-ի մոտ 1500 հիմքեր) (Huili et al., 2011): Այս մեթոդի կիրառությունը ավելի ճշգրիտ է դարձնում միկրոօրգանիզմների միջև գոյություն ունեցող ազգակցական կապերի ֆիլոգենետիկական վերլուծությունը (Philippe et al., 2009): Օգտագործվում են նաև որոշ սպիտակուց-կոդավորող գեներ՝ *tuf* (Լուգացիայի գործոնի գեն), *recA*, *hsp60* (ջերմային շոկի սպիտակուցի գեն), *rpoA* (ՌՆԹ-պոլիմերազի α - ենթամիավորի գեն), *dnaK* (ջերմային շոկի 70 kDa սպիտակուցի գեն) (Huang and Lee, 2011), FoF_1 - ԱԵՖ սինթազայի β -ենթամիավորներ (Sievers et al., 2003):

Լակտոբացիլները ներկայացնում են բազմացեղային ֆիլոգենետիկական խումբ, որը ներառում է մեծ քանակությամբ տեսակներ և շտամներ: Լակտոբացիլների առաջին ֆիլոգենետիկական անալիզը 1991 թ. կատարվել է Կոլինսի կողմից՝ այդ ժամանակ հայտնի ոչ մեծ թվով տեսակների վրա (Collins et al., 1990): Այսօր, տարբեր մեթոդների համատեղ կիրառման շնորհիվ, հնարավորություն է ընձեռնվել ստանալ ավելի ամբողջական պատկեր ֆիլոգենետիկական խմբերի քանակության մասին (Felis and Dellaglio, 2007): Սեքվենավորել են մեծ քանակությամբ գենոմներ. *Lactobacillus rhamnosus* - 30 գենոմ,

Lactobacillus plantarum - 30, *Lactobacillus fermentum* - 11, *Lactobacillus casei* - 29, *Lactobacillus brevis* - 13 և *Lactobacillus helveticus* - 15:

Ժամանակակից դասակարգման փոփոխությունները, ի լրացում վերոհիշյալ խմբերի, իրենց մեջ ընդգրկում են նաև առաջարկված հետևյալ նոր ցեղերը՝ *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Carnobacterium*, *Dolosigranulum*, *Enterococcus*, *Globicatella*, *Lactococcus*,



Նկ. 1.1. ԿԹԲ առանց արմատի ֆիլոգենետիկական ծառի գծապատկերը (Von Wright and Axelsson, 2012): Էվոլյուցիոն հեռավորությունները մոտավոր են:

Oenococcus, *Tetrigenococcus*, *Vagococcus* և *Weissella*: *Lactobacilli*, *Carnobacteria* և *Weissella* ցեղի որոշ ներկայացուցիչներ հանդիսանում են ձողեր, մինչդեռ մնացած ցեղերը ներառում են հիմնականում կոկեր (Jin et al., 2009): Համաձայն ներկայիս կարգաբանության ԿԹԲ պատկանում են՝ *Firmicutes* ֆիլումին, *Bacilli* դասին, *Lactobacillales* կարգին (Նկ. 1.1.) (Von Wright and Lars Axelsson, 2012):

1.3. ԿԹԲ նյութափոխանակությունը

ԿԹԲ նյութափոխանակության հիմքում ընկած է տարբեր ածխաջրերի ճեղքման գործընթացը, որը հիմնականում ուղեկցվում

Ե կաթնաթթվի անջատմամբ: Այն գուլգորդվում է կենսագործունեության համար անհրաժեշտ էներգիայի անջատմամբ (ԱԵՖ): Ինչպես հայտնի է ԱԵՖ-ը հանդիսանում է էներգիայի կարևորագույն փոխարկիչ և հաղորդիչ, որի հիդրոլիզն ընթանում է հետևյալ ձևով՝ $\text{ԱԵՖ} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ԱԿՖ} + \text{\$ոսֆատ}$:

Ցիտոքրոմներ և պորֆիրիններ (շնչառական շղթայի բաղադրիչներ) սինթեզվում ունակության բացակայության պատճառով ԿԹՔ չեն կարող ստանալ ԱԵՖ պրոտոնային գրադիենտի հաշվին: Այն տեղի է ունենում միայն խմորման ընթացքում սուբստրատային $\text{\$ոսֆորիլացման}$ ճանապարհով: Սուբստրատային $\text{\$ոսֆորիլացման}$ ժամանակ ԱԵՖ սովորաբար սինթեզվում է, երբ բարձր էներգիայի ելքով $\text{\$ոսֆատային}$ խումբը փոխանցվում է անմիջապես $\text{\$ոսֆորիլացված}$ սուբստրատից ադենոզինկրկնա $\text{\$ոսֆորաթվին}$ (ԱԿՖ) (Tortora et al., 2010):

Գոյություն ունեն հեքսոզների յուրացման երկու հիմնական ֆերմենտային ուղիներ՝ հոմոֆերմենտային և հետերոֆերմենտային: Առաջինը հիմնված է գլիկոլիզի վրա և կոչվում է նաև Էմբդեն-Մեյերհոֆ-Պառնասի ուղի, որի հիմքում ընկած է հեքսոզներից պիրուվատի առաջացումը: Որպես վերջնական էլեկտրոնի ակցեպտոր հանդիսանում է պիրուվատը, որը վերածվում է կաթնաթթվի (Նկ. 1.3.): Հոմոֆերմենտային խմորումը բնորոշ է հիմնականում՝ *lactobacilli* (*L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. salivarius*), *enterococci*, *lactococci*, *pediococci*, *streptococci*, *tetragenococci* և *vagococci* ցեղերի ներկայացուցիչներին:

Հետերոֆերմենտային ուղու արդյունքում, որը հաճախ կոչվում է նաև պենտոզ- $\text{\$ոսֆոկետոլազային}$ ուղի կամ հեքսոզ-մոնոֆոսֆատային ճյուղավորում, կամ 6- $\text{\$ոսֆոգլյուկոնատային}$ ուղի, իլրացում կաթնաթթվի արտադրվում է նաև ածխաթթու գազ (CO_2) և էթանոլ, կամ քացախաթթու (Նկ. 1.3.) (Von Wright and Axelsson, 2012): Հետերոֆերմենտային ուղին իրականացնող ԿԹՔ ներառում են՝ *leuconostoc*, որոշ *lactobacilli* (օրինակ՝ *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. fermentum* և *L. reuteri*), *oenococci* և *weissella* տեսակները:

Այսպիսով, կախված խմորման տիպից, ԿԹՔ լինում են օբլիգատ հոմո կամ հետերոֆերմենտային խմորում իրականացնող, բայց մի փոքր բացառությամբ կան նաև $\text{\$ակուլտատիվ}$ հետերոֆերմենտային,

այսինքն հոմոֆերմենտային ուղիով խմորում են հեքսոզները, սակայն կարող են խմորել նաև պենտոզները: Գլիկոլիզի ժամանակ միջավայրում գլյուկոզի առկայության և սահմանափակ թթվածնի պայմաններում հոմոֆերմենտային ԿԹԲ խմորում են մեկ մոլեկուլ գլյուկոզը՝ առաջացնելով 2 մոլեկուլ պիրուվատ: Ներբջջային օքսիդա-վերականգնիչ հավասարակշռությունը պահպանվում է նիկոտինամիդադենիսինդինուկլեոտիդի (ՆԱԴԻ) օքսիդացման հաշվին, որն ուղեկցվում է պիրուվատի ճեղքմամբ կաթնաթթվի: Այդ գործընթացը տալիս է երկու մոլեկուլ ԱԵՖ:

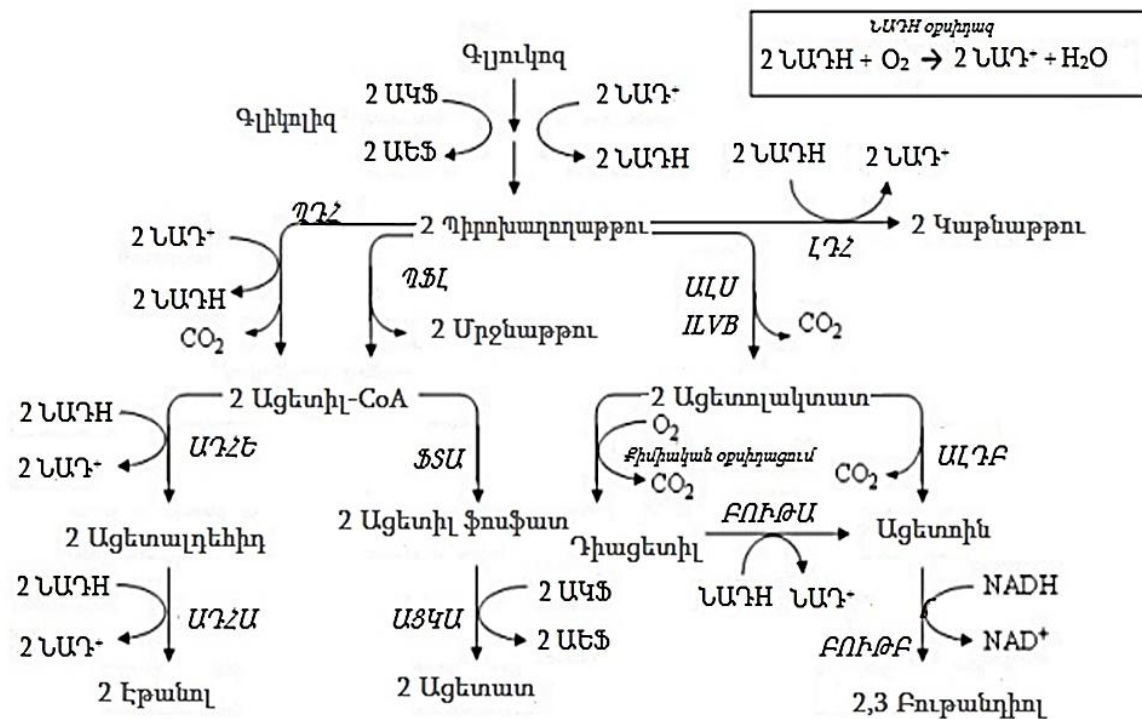
Հոմոֆերմենտային խմորումը կարելի է ներկայացնել հետևյալ տեսքով.



Այսպիսով, ածխաջրերի փոխադրումը և ֆոսֆորիլացումը տեղի է ունենում ազատ գլյուկոզի տեղափոխման և ԱԵՖ-կախյալ հեքսոզ կինազայով ֆոսֆորիլացման շնորհիվ: Այլ տեսակի ածխաջրեր, ինչպիսիք են մանոզը և ֆրուկտոզը մտնում են խմորման հիմնական ուղիներ՝ իզոմերացման և ֆոսֆորիլացման տարբեր փուլեր անցնելուց հետո, կամ որպես գլյուկոզ-6-ֆոսֆատ, կամ ֆրուկտոզ-6-ֆոսֆատ: Խմորման գործընթացը կարող է ընթանալ նաև ֆոսֆոէնոլ պիրուվատ-կախյալ ֆոսֆոտրանսֆերազային համակարգի՝ ՖԵՊ:ՖՏՀ-ի միջոցով, որտեղ ֆոսֆոէնոլ պիրուվատը հանդիսանում է ֆոսֆորիլ խմբի դոնոր շաքարների յուրացման համար: Որոշ տեսակի ԿԹԲ (*Lactococcus lactis*) օգտագործում են այս ՖԵՊ:ՖՏՀ ուղին միայն գալակտոզի բջիջ ներմուծման ժամանակ, իսկ մյուսները՝ նաև այլ ածխաջրերի շրջանառման դեպքում:

Օրինակ, *L. lactis subsp lactis*-ի գենոմային անալիզի արդյունքում բացահայտվել են որոշ գեներ, որոնք ծածկագրում են պիրուվատի ճեղքումը պայմանավորող ֆերմենտներ: Այս դեպքում որպես վերջանյութ առաջանում են էթանոլ, ացետատ, ֆորմիատ, դիացետիլ, ացետոին և բութանդիոլ (Նկ. 1.2.): Նման գեների կարգավորման և կառավարման մեխանիզմների պարզաբանումը հնարավորություն է կստեղծի խթանելու այս վերջանյութերի ելքը՝ նպաստելով շտամների ակտիվացմանը պանիրների, կարագի և այլ կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ (Oliveira et al., 2005):

Վերջիններիս մոտ գործում են պերմիազային տիպիկ համակարգեր (Hutkins and Morris, 1987):

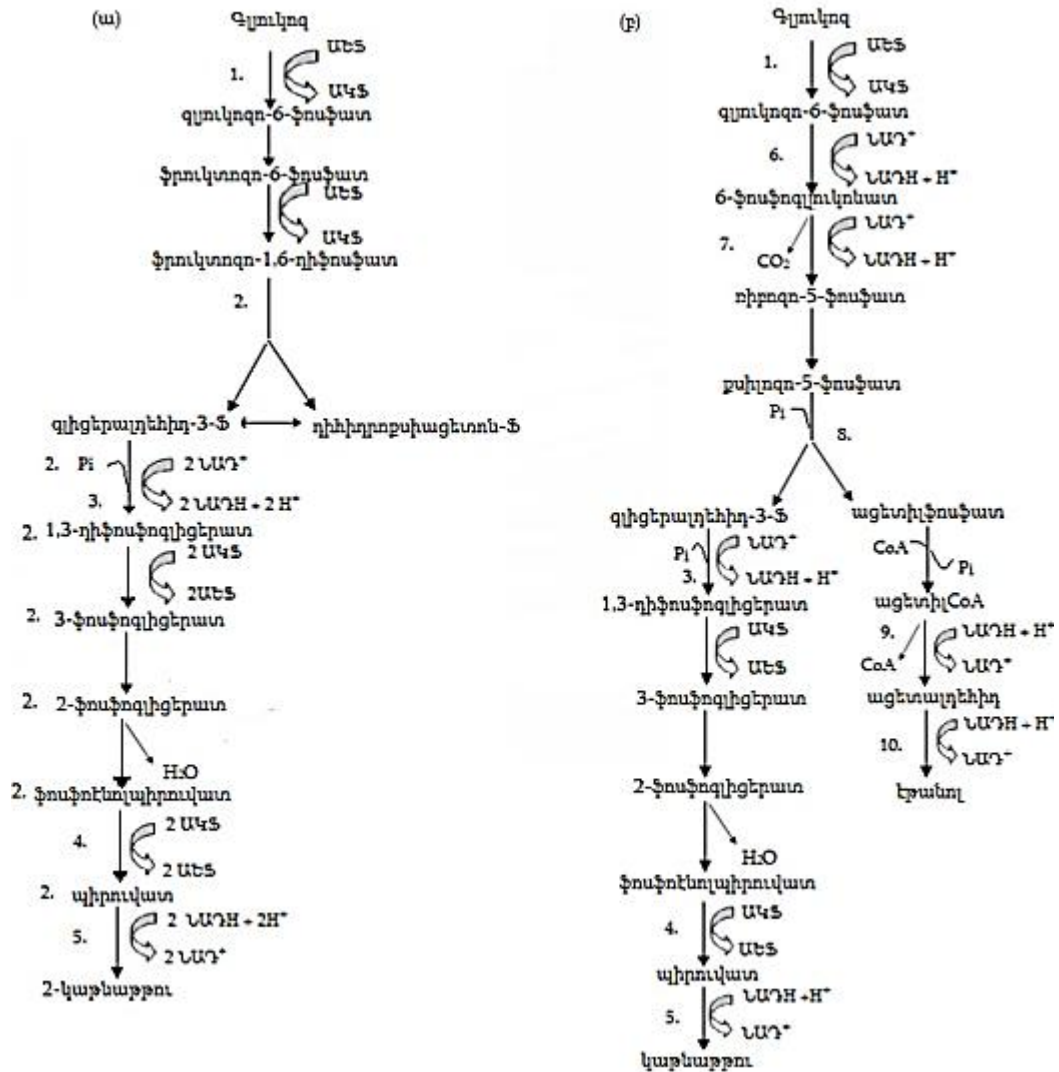


ԼԴՅ - Լակտատ դեհիդրոգենազ, ՊԴՅ - պիրուվատ դեհիդրոգենազային համակարգ, ՊՖԼ - պիրուվատ ֆոսֆատ-Լիազ, ԱԴՅԵ - ադենոսլ դեհիդրոգենազ, ԱԴՅԱ - ալկոհոլ դեհիդրոգենազ, ՊՏԱ - ֆոսֆոտրանսացետիլազ, ԱՏԿԱ - ադենատ կինազ, ԱԼՍ/ILVB - 2-ադենոսլակտատի անաբոլիկ և կատաբոլիկ սինթեզ, ԱԼԴԲ - ադենոսլակտատ դեկարբոքսիլազ, ԲՈԼԹԱ - դիադետիլ ռեդուկտազ, ԲՈԼԹԲ - ադենոսլ ռեդուկտազ:

19

գլիցերալ դեհիդֆոսֆատի և ալդոլ ֆոսֆատի (Шлегель, 1987): Գլիցերալ դեհիդֆոսֆատը պիրուվատից վերածվում է կաթնաթթվի, իսկ ալդոլ ֆոսֆատից անջատվում է էթանոլ:

Leuconostoc mesenteroides-ի մոտ ալդոլ ֆոսֆատը ալդոլ -CoA-ի և ալդոլ դեհիդրո 2-նորիիլ վերականգնվում է էթանոլի, որտեղ ԱԵՖ-ի ելքը միայն մեկ մոլ է:



Նկ. 1.3. Գլյուկոզի խմորման ուղիները (Von Wright and Axelsson, 2012):

ա – Յոմոֆերմենտային խմորում, բ – հետերոֆերմենտային խմորում:

1. Գլյուկոզի կինազ, 2. Ֆրուկտոզ-1,6-դիֆոսֆատ ալդոլազ, 3. Գլիցերալ դեհիդ-3-ֆոսֆատ դեհիդրոգենազ, 4. Պիրուվատ կինազ, 5. Լակտատ դեհիդրոգենազ, 6. Գլյուկոզ-6-ֆոսֆատ դեհիդրոգենազ, 7. 6-ֆոսֆո-գլյուկոնատ դեհիդրոգենազ, 8. Ֆոսֆոկետոլազ, 9. Ալդոլ դեհիդրոգենազ, 10. Ալկոհոլ դեհիդրոգենազ:

Մնացած ԿԹԲ ացետիլ ֆոսֆատը մասամբ կամ ամբողջությամբ վերածում են քացախաթթվի, որն ուղեկցվում է ԱԵՖ-ի ևս մեկ մոլեկուլի սինթեզմամբ: Այդ դեպքում ջրածնի ավելցուկը փոխանցվում է գլյուկոզին և առաջանում է մանիտոլ:

L. plantarium տեսակի մոտ գլյուկոզի խմորումը իրականացվում է հոմոֆերմենտային ուղիով, իսկ պենտոզները ճեղքվում են ֆոսֆոկետոլազայի ազդեցությամբ՝ առաջացնելով կաթնաթթու և քացախաթթու: Անհրաժեշտ է նշել, որ այնպիսի տիպիկ հոմոֆերմենտային խմորում իրականացնող ԿԹԲ ինչպիսին է *L. casei*-ին, չնայած այն հանգամանքին, որ գլյուկոզը խմորում է հոմոֆերմենտային ուղիով, սակայն ռիբոզը վերածում է լակտատի և ացետատի հետերոֆերմենտային ուղիով (Шлегель, 1987):

1.4. *Lactobacillus acidophilus* տեսակի քնդհանուր բնութագիրը և առանձնահատկությունները

Մարդու միկրոբիոտայի ուսումնասիրությունը հանդիսանում է համակարգային կենսաբժշկության արագ զարգացող ուղղություններից մեկը (Kelsen and Wu, 2012; Nicholson et al., 2012): Աղիքային միկրոբիոտայի պրոբիոտիկային կազմի համախումբը (բիֆիդոբակտերիաները և լակտոբացիլները) կարևոր և առանցքային դեր է կատարում մարդու իմունային համակարգի և հոմեոստազի կարգավորման մեջ, այդ թվում նյարդա-հոգեբանական և վարքագծային առանձնահատկությունների դրսևորման ժամանակ (Foster and McVey Neufeld, 2013; Moloney et al., 2014; Turroni et al., 2014): Հայտնի է նաև, որ մեծ թվով օգտակար կենդանի բջիջների օգտագործումը կրճատում է հաստաղիքի անցանկալի միկրոօրգանիզմների այնպիսի ֆերմենտների քանակությունը, ինչպիսիք են՝ β -գլյուկոլիոլոնիդազը, ազոբեդուկտազը, նիտրոբեդուկտազը (Bibek Ray, 2005):

Հայտնաբերվել է կորելացիոն կապ մարդու միկրոֆլորայի պրոբիոտիկ բաղադրիչների և որոշ հիվանդությունների միջև (Larsen et al., 2010; Cain and Karpa, 2011): Սակայն ոչ բոլոր լակտոբացիլների տեսակներն են օժտված պրոբիոտիկ

հատկություններով, քանի որ գոյություն ունի տեսակային և շտամային սպեցիֆիկություն (MacKenzie et al., 2010):

Lactobacillus acidophilus անվանումը ծագել է լատիներեն «lacto»՝ կաթ և «bacillus»՝ ցուպիկ բառերից, իսկ տեսակի անվանումը՝ «acidum»՝ թթու և «philus»՝ սիրելի բառերից: Այս տեսակի մանրէները լայնորեն տարածված են բնության մեջ և սովորաբար հանդիպում են մի շարք բնական միջավայրերում, ինչպիսիք են՝ կաթը, միսը, ձկնամթերքը, բանջարեղենը, հրուշակեղենը և այլն (Díaz-Ropero et al., 2007; Dortu et al., 2009; Hwanhlem et al., 2011): Կլասսոնը (Claesson et al., 2008) իր վերջին ֆիլոգենետիկական հետազոտությունների արդյունքում պարզել է, որ *L. acidophilus*-ի շտամները մեծամասամբ հայտնաբերվում են մարդու և կենդանիների աղեստամոքսային համակարգում: Իսկ մետաբենոմիկոսոմնասիրությունները ցույց են տվել, որ ԿԹԲ կարող են կազմել մարդու հաստաղիքի և կղանքի ընդհանուր միկրոֆլորայի միայն 0.2-1%, ընդ որում տարածվածությունը տատանվում է տարբեր մարդկանց մոտ (Walter, 2008; Kleerebezem and Vaughan, 2009):

L. acidophilus-ը կարճ (2-10μm), գրամ-դրական ձող է, որի աճման օպտիմալ ջերմաստիճանային միջակայքը տատանվում է 37-ից 42°C սահմաններում (Altermann et al., 2005), այն աճման բարձր մակարդակի է հասնում թեթև թթվային միջավայրերում, որտեղ pH 5.5–6.0 է, իսկ աճի ստորին սահմանը համարվում է pH 4.0 (Shah, 2007): Գենետիկական մակարդակով կենսասինթետիկ ուղիների ուսումնասիրությամբ կատարված աշխատանքների արդյունքում պարզվել է, որ *L. acidophilus*-ը հանդիսանում է առաջատարոժ 14 ամինաթթուների նկատմամբ, ինչպես նաև ունակ է սինթեզել ու մի շարք կոֆակտորներ, վիտամիններ (ռիբոֆլավին, վիտամին B6, նիկոտինամիդ, նիկոտին, նիկոտինատ և ֆոլաթթու) (Altermann et al., 2005): Այդ պատճառով այս մանրէների աճի և նորմալ զարգացման համար անհրաժեշտ է միջավայրում ավելացնել տարբեր բուսական լուծամզվածքներ (կարտոֆիլ, գազար, եգիպտացորեն և այլն), խմորասնկային լուծամզվածք և աճեցնել վիտամիններով և այլ սննդանյութերով հարուստ սննդամիջավայրում, ինչպիսին հանդիսանում է օրինակ՝ Դե Ման, Ռոգոզա, Շարփը (ՄՌՇ) (De Man et al., 1960):

1.4.1. Պրոբիոտիկների ազդեցությունը մեխանիզմները:
***L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի բնութագրումը**
որպես պրոբիոտիկ

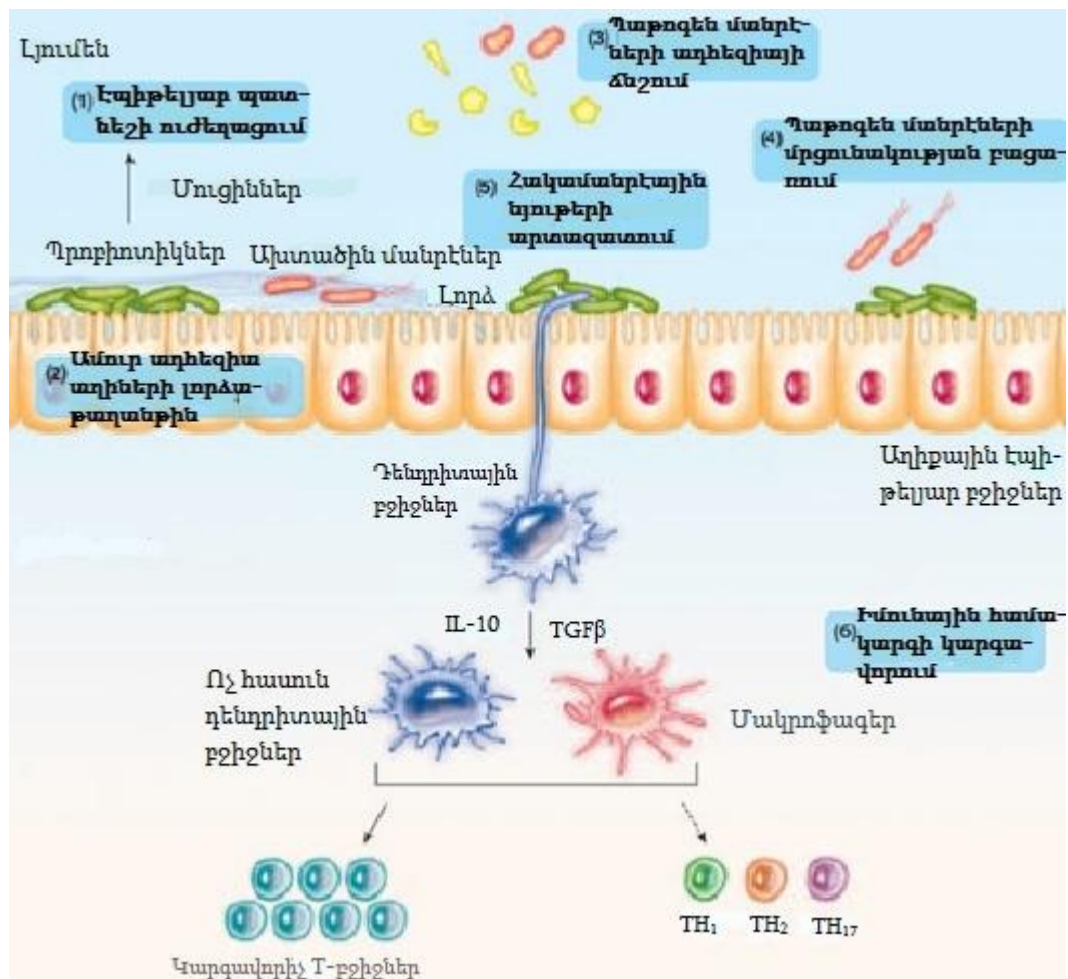
L. acidophilus-ը լայն տարածում ունի կաթնամթերքների արտադրության, բժշկության, անասնաբուժության մեջ և առավել հաճախ հայտնի է «պրոբիոտիկ» անվան տակ (Sanders and Klaenhammer, 2001; Matthew et al., 2014): Համաձայն միջազգային բնորոշումների (FAO/WHO)՝ պրոբիոտիկները կենդանի օրգանիզմներ են, որոնց համապատասխան քանակության ընդունումը տեր-օրգանիզմի առողջության վրա թողնում է բարերար ազդեցություն (FAO/WHO, 2001; Lebeer et al., 2008):

Բազմաթիվ միկրոօրգանիզմների վրա պրոբիոտիկների ունեցած անտագոնիստական ազդեցության մեխանիզմների դրսևորման շարքը իր մեջ ներառում է՝ հակամանրէային նյութերի արտազատում, մրցակցային ադիեզիա աղիների լորձաթաղանթին, ադեստամոքսային ուղու էպիթելյար պատնեշի ուժեղացում և իմունային համակարգի կարգավորում (Նկ. 1.4.) (Karlsson et al., 2002; Rafter et al., 2007; Liong, 2008; Collado et al., 2010; Bermudez-Brito et al., 2012):

Աղիքային էպիթելը գտնվում է անընդհատ կապի մեջ լուծմիսալ պարունակության և դինամիկ, փոփոխական աղիքային միկրոբիոտայի հետ: Աղիքային պատնեշը հանդիսանում է այն հիմնական մեխանիզմը, որն ուղղված է էպիթելի ամբողջականության պահպանմանը և շրջակա միջավայրի ազդեցությունից օրգանիզմի պաշտպանմանը: Պաշտպանիչ հիմնական տարրերը կազմում են լորձաթաղանթը, հակամանրէային պեպտիդները, արտազատվող IgA (իմունոգլոբուլին A) և ադիեզիոն համալիրը (Ohland and Macnaughton, 2010): Պատնեշային ֆունկցիայի խախտման դեպքում մանրէային և սննդային հակազենները կարող են թափանցել ենթալորձային շերտ՝ առաջացնելով բորբոքային ռեակցիաներ, որոնք կարող են հանգեցնել աղիքային բորբոքային հիվանդությունների առաջացմանը (Sartor, 2006): Այնուամենայնիվ, պրոբիոտիկների ազդման մեխանիզմները աղիների պատնեշային ֆունկցիայի վրա վերջնականորեն պարզաբանված չեն:

Մի շարք աղբյուրներ նշում են ազդանշանային ամուր կապման համակարգում որոշ գեների էքսպրեսիայի ազդեցության մասին,

որոնք կարող են հանդիսանալ աղիքային պատնեշի ամբողջականության պահպանման մեխանիզմներից մեկը (Anderson et al., 2010): Օրինակ T84 բջջի պատնեշային մոդելում և ակտոբացիլները մոդելավորում են ադիեզիոն կապման սպիտակուցներ, ինչպիսիք են E-կադերինը և β -կատենինը: Բացի այդ, աղիքային բջիջների կուլտիվացումը և ակտոբացիլների հետդիֆերենցված ձևով ազդում է ադիեզիոն կապման սպիտակուցների ֆոսֆորիլացման և պրոտեին կինազ C (PKC) իզոֆորմ ձևերի ակտիվացման վրա, ինչպիսին է PKC β , այդպիսով աղիքային պատնեշային ֆունկցիայի վրա թողնելով դրական ազդեցություն (Hummel et al., 2012):



Նկ. 1.4. Պրոբիոտիկների ազդեցության հիմնական մեխանիզմները (Bermudez-Brito et al., 2012):

Պրոբիոտիկները ապահովում են էպիթելյար պատնեշի ուժեղացումը՝ ամուր ադիեզիվելով աղիների լորձաթաղանթին (1,2): Այնուհետև տեղի է

ուև ենուում ախտածին մանրէների ադիեզիայի ճնշում (3):
 Լակտոբակտերիաների ադիեզիան և ործաթադանթին բացառում է
 պաթոգենների մրցակցությունը (4): Միջավայր են արտազատվում
 հակամանրէային նյութեր (օրինակ՝ բակտերիոցիններ) (5) և խթանվում է
 իմունային համակարգի կարգավորումը (6):

Այսպիսով, պրոբիոտիկների ընդհանուր պահանջների ցանկը իր
 մեջ ներառում է հետևյալ բոլոր հատկությունները (Mattila and
 Sarraela, 2000)՝ .

- ✓ Թթվի և լեղու նկատմամբ դիմացկունություն
- ✓ Մարդու աղիքային բջիջներին ադիեզվելու ընդունակություն
- ✓ Ընդունակություն խոչընդոտելու ախտածին մանրէների
 ադիեզիան և ործաթադանթի մակերեսին
- ✓ Մարդու աղեստամոքսային համակարգում գաղութացվելու
 ընդունակություն
- ✓ Անտագոնիզմի դրսևորում ախտածին մանրէների նկատմամբ
- ✓ Հակամանրէային նյութերի սինթեզում
- ✓ Արտադրության տարբեր տեխնոլոգիական գործընթացներում
 գոյատևելու հատկություն
- ✓ Անվտանգության գնահատում (ոչ ախտածին, ոչ թունավոր, ոչ
 ալերգեն, ոչ մուտագեն)
- ✓ Ցանկալի նյութափոխանակային ակտիվություն և
 հակաբիոտիկների նկատմամբ կայունություն
 (ռեզիստենտություն)

Բազմաթիվ հեղինակներ (Ouweland et al., 2003; Ouweland and Vesterlund,
 2003; Begley et al., 2006; Rodriguez et al., 2010) ուսումնասիրել և
 արձանագրել են պրոբիոտիկների կանխարգելիչ /թերապևտիկ
 օգտակարությունը՝ հաստատելով դրանց ազդեցությունը հետևյալ
 ոլորտներում՝

- ախտածին մանրէների և վիրուսների պատճառով առաջացող
 դիարեայի (փորլուծություն) կանխում,
- հակաբակտերիական թերապիայից հետո աղիքային
 միկրոբիոտայի կարգավորում,
- գաստրիտի, խոցերի և ստամոքսի քաղցկեղի պատճառ
 հանդիսացող *Helicobacter pylori*-ի բուժում,

- լակտոզ չյուրացնող անհատների մոտ լակտոզային փոխանակության կարգավորում,
- հակաքաղցկեղային ազդեցություն՝ շնորհիվ աճման ընթացքում արտադատած նյութերի,
- խոլեստերինի քանակության նվազում արյան մեջ,
- γ-ինտերֆերոնի արտադրության խթանում,
- օրգանիզմի իմունային պատասխանի համար պատասխանատու հակամարմինների՝ իմունոգլոբուլին G տիպի բարձրացում:

Ինչպես նկարագրվել է Սալմինենի և մյուսների կողմից (Salminen et al., 2010)՝ ադիեզիայի հատկությունը, ինչպես նաև ախտածին մանրէների հետ փոխազդեցության ունակությունը հանդիսանում են հավանական պրոբիոտիկ շտամների ընտրության կարևոր չափանիշ:

Այդպիսի բնական և մի շարք բուժիչ հատկություններով օժտված հայրենական արտադրանքի պրոբիոտիկ հանդիսանում է «Նարինե» կաթնամթերքը, որը իրենից ներկայացնում է *L.acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը՝ մեկուսացված պրոֆեսոր Լ. Երզինկյանի կողմից: 1964 թ. անջատված այս շտամը պաշտոնապես արտոնագրվել և այնուհետև ավանդադրվել է ՀՀ ԳԱԱ Մանրէների ավանդադրման հանրապետական կենտրոնում (Ерзинкян, 1964; Каталог культур, 1996): *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը օժտված է բարձր ադիեզիվ, հակամանրէային, սպիրտ- և ֆենոլ ադիմացկունությամբ (Арутюнян и др., 2014; Harutyunyan, 2015), ինչպես նաև մի շարք այլ հատկություններով, որոնք այն դարձնում են բազմակողմանի կիրառություն ունեցող պայքարի միջոց, հատկապես, մարսողական համակարգի, մաշկային, ալերգիկ, հաստ աղիքի գործառնության և բորբոքային մի շարք հիվանդությունների ժամանակ:

Հայտնի է նաև, որ այն ունի ինտերֆերոնի սինթեզը խթանող ազդեցություն՝ նպատելով իմունային համակարգի ակտիվացմանը մի շարք քաղժկեղածին բջիջների նկատմամբ և հանդիսանում է լրացուցիչ միջոց չարորակ նորագոյացությունների բուժման ժամանակ (Kita and Kishida, 1987):

Պարզվել է նաև, որ «Նարինեն» կարելի է օգտագործել որպես իմունոխթանիչ՝ վարակիչ հիվանդությունների բուժման ժամանակ:

Հետազոտությունները կատարվել են IL-1 β և IL-10 սինթեզի խթանման և ռեգուլյացիայի ուսումնասիրության ուղղությամբ՝ մարդու դենդրիտային բջիջների և կուլտիվացվող մոնոցիտների միջոցով՝ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե»-ի, ցիտոկինների, TLR և NLR ռեցեպտորների ազոնիստների ազդեցությամբ (Սուքիասյան, 2011):

1.4.2. *L. acidophilus*-ի պրոտնային ԱԵՖ-ազի կառուցվածքը և գործառնության նշանակությունը

ԱԵՖ-ի սինթեզը հանդիսանում է կենդանի օրգանիզմում տեղի ունեցող գլխավոր քիմիական ռեակցիաներից մեկը: Պարզվել է, որ մարդու բնականոն առօրյայում օգտագործվում է 40կգ ԱԵՖ: ԱԵՖ-ի սինթեզի համար պատասխանատու ֆերմենտը հանդիսանում է F₀F₁-տիպի ԱԵՖ-ազան, որը այլ կերպ կոչվում է ԱԵՖ-սինթազա: Պրոկարիոտ օրգանիզմներում այն մեծ համալիր է՝ կազմված ութ տարբեր ենթամիավորներից, իսկ կաթնասունների մոտ՝ 16-18 և մոլեկուլյար զանգվածը 550-650kDa: Այն հայտնաբերվում է մանրէների պլազմային թաղանթում, բույսերի քլորոպլաստ տիլակոիդային թաղանթում և կենդանիների ու բույսերի միտոքոնդրիաների ներքին թաղանթում: Հետաքրքիր է, որ կան տեղեկություններ ըստ որի մարդու էնդոթելային բջիջների պլազմային մեմբրանում առկա F₁F₀-ԱԵՖ-սինթազան ազդում է որպես անգիոստատինի ռեցեպտոր (Moser et al., 2001):

Այսպիսով, F₀F₁-ԱԵՖ-սինթազան հանդիսանում է բջջի էներգետիկ մետաբոլիզմի կարևոր ֆերմենտ: Այն բաղկացած է երկու հիմնական մասից՝ լուծելի F₁ հատվածից, որը կատալիզում է ԱԵՖ-ի սինթեզը (հիդրոլիզ) և թաղանթի միջով պրոտոնների փոխադրումը ապահովող ու թաղանթի մեջ ընկղմված F₀ հատվածից: Ֆերմենտը իրականացնում է ԱԵՖ-ի սինթեզը շնորհիվ տրանսմեմբրանային պրոտոնային գրադիենտի էներգիայի՝ ապահովելով բջջին յուրահատուկ էներգիայի աղբյուրով (Capaldi and Aggeler, 2002): Որոշ օրգանիզմների դեպքում, այդ թվում նաև լակտոբացիլների, ցույց է տրվել, որ ֆերմենտը կարող է իրականացնել բջջից պրոտոնների էքսպորտի հակադարձ գործընթաց՝ օգտագործելով ԱԵՖ-ի էներգիան, որն էլ իր հերթին ապահովում է ներբջջային pH-ի կայունությունը:

Լակտոբացիլների մոտֆերմենտի ութ ենթամիավորները՝ a, c, b, δ, α, β, γ, ε գաղտնագրող գեները համախմբվում են օպերոնի մեջ: Օպերոնի առաջին գենի առջև գտնվում է միջգենային հատվածը, որը պարունակում է պրոմոտոր և տրանսկրիպցիայի կարգավորիչների հետ կապող սայթեր: Քյուլենի և Բլենհամմերի (Kullen and Klenhammer, 1999) կողմից բացահայտված *atp* օպերոնի ամինաթթվային հաջորդականությունն ու յնականացման արդյունքում պարզվել է, որ *L. acidophilus*-ի *atpBEFHAGDC* գենային հաջորդականությունը նման է այլ բակտերիաների՝ հատկապես *Enterococcus hirae* և *Streptococcus mutans*-ի ԱԵՖ-ազային համալիրների համապատասխան ենթամիավորներին (Kullen and Klenhammer, 1999; Andrea Azcarate-Peril et al., 2004):

Առողջ մարդու դատարկ ստամոքսի ստամոքսային թմբի pH-ի ցուցանիշը նորմայում 1.0-2.0 է, որը կարող աճել մինչև 4.0-5.0 ուտելու ժամանակ: Ստամոքսում pH-ի բարձրացմանը զուգընթաց մանրէների քանակությունը կարող է աճել մինչև 10^4 - 10^8 գաղունթառաջացնող միավորներ մեկ գրամում: Աղեստամոքսային ուղում բնակվող միջարք միկրոօրգանիզմների համար FoF_1 -ԱԵՖազան կարևոր տարր է՝ դիմակայելու և պատասխանելու ցածր pH-ին: Ցույց է տրվել, որ *E. hirae* և *S. mutans*-ի մոտ ցիտոպլազմային pH-ի կայունությունը պահպանվում է H^+ տեղափոխող թաղանթային ԱԵՖ-ազների միջոցով՝ պրոտոնների ակտիվ ներհոսքով և արտահոսքով (Papadimitriou et al. 2007):

Արտաքին ցածր pH-ի (<3.5) պայմաններում *L. acidophilus* կարող է պահպանել ցիտոպլազմատիկ pH-ի չեզոք արժեք (Kashket, 1987): 1984 թ.-ին Կոբայաշիի և մյուսների (Kobayashi, 1985) հետազոտությունների արդյունքում պարզվեց, որ *Streptococcus faecalis*-ի մոտ H^+ տեղափոխող թաղանթային ԱԵՖ-ազան ավելանում է, երբ բջիջները աճում են pH 8-ից ցածր պայմաններում պրոտոնոֆորների առկայությամբ: Ցիտոպլազմատիկ pH-ը 7.6-7.8 պահելու համար բջիջները արտամղում են պրոտոններ, ինչը հետագայում նվազում է, երբ ցիտոպլազմային pH-ը հասնում է 7.6: Կոբայաշիի ենթադրեց, որ ցիտոպլազմային ցածր pH-ի պայմաններում աճման ժամանակ դա է հանդիսանում H^+ -ԱԵՖազի ակտիվացման պատճառը (Kobayashi, 1985):

Իսկ Ասկարատ-Պերիլի աշխատություններում նշվում է, որ ցածր pH-ի ազդեցությունը նպաստում է ԱԵՖ-ազա սպեցիֆիկ ռՌՆԹ-ի

շատացմանը, ինչը մատնանշում է տրանսկրիպցիայի մակարդակով կարգավորման մասին (Azcarate-Peril et al., 2004; 2005): Թթվային սթրեսի պայմաններում *L. reuteri* և *L. lactis* բակտերիաների մոտ հայտնաբերվել է տասնյակ գեների ակտիվացում: Ակտիվացում տեղի է ունենում նաև շաքարների և ամինաթթուների նյութափոխանակության և pH-ի հոմեոստազի մեջ ներառված բազմաթիվ գեների մոտ (Budin-Verneuil et al., 2005): Ամինաթթուների դեկարբոքսիլացման-անտիպրոտերային ռեակցիաներում ամինաթթուներ մտնում է բջիջ, որտեղ տեղի է ունենում դեկարբոքսիլացում: Պրոտոնը ծախսվում է ռեակցիայի ընթացքում և մնացորդը դուրս է գալիս բջջից անտիպրոտերի միջոցով: Վեջնական արդյունք է հանդիսանում ներբջջային pH-ի բարձրացումը:

Salmonella enterica serovar *typhimurium*-ի մոտ նկարագրված են մի շարք ամինաթթուների դեկարբոքսիլազներ, ինչպիսիք են լիզին, օրնիտին և արգինին դեկարբոքսիլազները, իսկ *Escherichia coli* ու *Shigella flexneri*-ի մոտ՝ արգինին և գլյուտամատ դեկարբոքսիլազները, որոնք նպաստում են ներբջջային pH-ի բարձրացմանը (Bearson et al., 1997): Գրամ-դրական բակտերիաների մոտ արգինին և գլյուտամատ դեկարբոքսիլազներ նկարագրվել են *Listeria monocytogenes* (Cotter, 2001) և *L. lactis* տեսակների մոտ (Nomura et al., 1999):

L. acidophilus-ի և *E. hirae*-ի FoF₁-ԱէՖազային համալիրները բնականոն ֆիզիոլոգիական պայմաններում սուբստրատային ֆոսֆորիլացման հաշվին հիդրոլիզի ռեժիմով սինթեզում են ԱէՖ, և այս համալիրը արգելակվում է ԴՑԿԴ կոդմից (Kakinuma, 1998):

1.5. Հակաբիոտիկների ընդհանուր բնութագիրը և դասակարգումը ըստ ազդեցության մեխանիզմի

Հակաբիոտիկները հանդիսանում են ժամանակակից բժշկության գլխավոր բացահայտումներից մեկը: Հակաբիոտիկների կիրառումը տարածված է եղել դեռևս հին ժամանակներից: Օրինակ՝ երկու հազար տարի առաջ չինացիները օգտագործում էին խինին, որ ստացվում էր խինայա ծառի կեղևից և գործածում այն գլխավորապես իբրև հակամալարիական դեղ: Հին եգիպտացիները, հույները և արաբները վարակների բուժման համար օգտագործում էին բորբոսասնկեր՝

շնորհիվ իրենց հակամանրէային ազդեցության, որը անվանվեց անտիբիոզ: 1877 թ. անտիբիոզ առաջին անգամ նկարագրվեց Լուի Պաստյորի և Ռոբերտ Կոխի կողմից, երբ նրանք գտան, որ օդում գտնվող բացիլները ունակ են ճնշել ու սփռիչ անխոցի հարուցիչի աճն ու զարգացումը: Այստեղից էլ առաջացավ «հակաբիոտիկ» տերմինը, երբ նյութը, որն արտադրվում է միկրոօրգանիզմի կողմից քիչ քանակությամբ, ճնշում է մեկ այլ միկրոօրգանիզմին: Այդ տերմինը առաջին անգամ 1942 թ. օգտագործվեց Ս. Վաքսմանի կողմից (Waksman, 1947): 1928 թ. անգլիացի գիտնական Ա. Ֆլեմինգը հայտնաբերեց, որ Պենտրիի թասում գտնվող բորբոսասնկերի (*Penicillium notatum*) գաղութների շրջակայքում *Staphylococcus aureus*-ի աճը ճնշվում է: Հետագայում 1932 թ. առաջին սուլֆանիլամիդային պարոաստուկները լայն տարածում գտան այնպիսի հիվանդությունների բուժման ժամանակ, ինչպիսիք էին միզատեղանի ուղու հիվանդությունները, դիզենտերիան, թոքաբորբը և նույնիսկ թարախային մենինգիտը:

Հակամանրէային պարոաստուկները ըստ ազդման լինում են երկու տեսակի՝ բակտերիցիդ (անմիջապես սպանում են մանրէներին) և բակտերիաստատիկ (ազդում են մանրէների աճի վրա): Վերջիններիս թվին դասվում են տետրացիկլինը և սուլֆանիլամիդային հակաբիոտիկները, որոնց ազդեցությամբ միկրոօրգանիզմները, կորցնելով կիսվելու ունակությունը, հեռացվում են մակրոօրգանիզմի սեփական պաշտպանական մեխանիզմների շնորհիվ (Tortora et al., 2010):

Ըստ ազդեցության մեխանիզմների հակաբիոտիկները լինում են (Նկ. 1.5.).

- մանրէների բջջապատի սինթեզը խաթարող (β -լակտամներ՝ պենիցիլիններ, ցեֆալոսպորիններ, մոնոլակտամներ՝ վանկոմիցին, բացիտրացին),
- սպիտակուցների սինթեզը խաթարող (լևոմիցետին, էրիթրոմիցին, ամինոգլիկոզիդներ, տետրացիկլիններ, մակրոլիդներ, լինկոսամիդներ, ամֆենիկոլներ),

- հակաբիոտիկներ, որոնք կապվում են ռՌՆԹ-ի 50S ենթամիավորին (կլինդամիցին, լինկոմիցին, քլորամֆենիկոլ, մակրոլիդներ),
- հակաբիոտիկներ, որոնք ազդում են 30S ռիբոսոմային ենթամիավորի վրա (տետրացիկլիններ, ամինոգլիկոզիդներ),
- նուկլեինաթթուների սինթեզը խաթարող (ռիֆամպին, մետրոնիդազոլ, նովոբիոցին, հակաուռուցքային հակաբիոտիկներ),
- ցիտոպլազմային թաղանթը վնասող (պոլիէնային, պոլիմիքսին B, գրամիցինոլ)

Հակաբիոտիկները դասակարգվում են նաև ըստ միկրոօրգանիզմների, որոնց նկատմամբ ունեն արդյունավետ ազդեցություն և վարակների տեսակի, որի դեպքում դրանց կիրառությունը ունենում է դրական ազդեցություն:

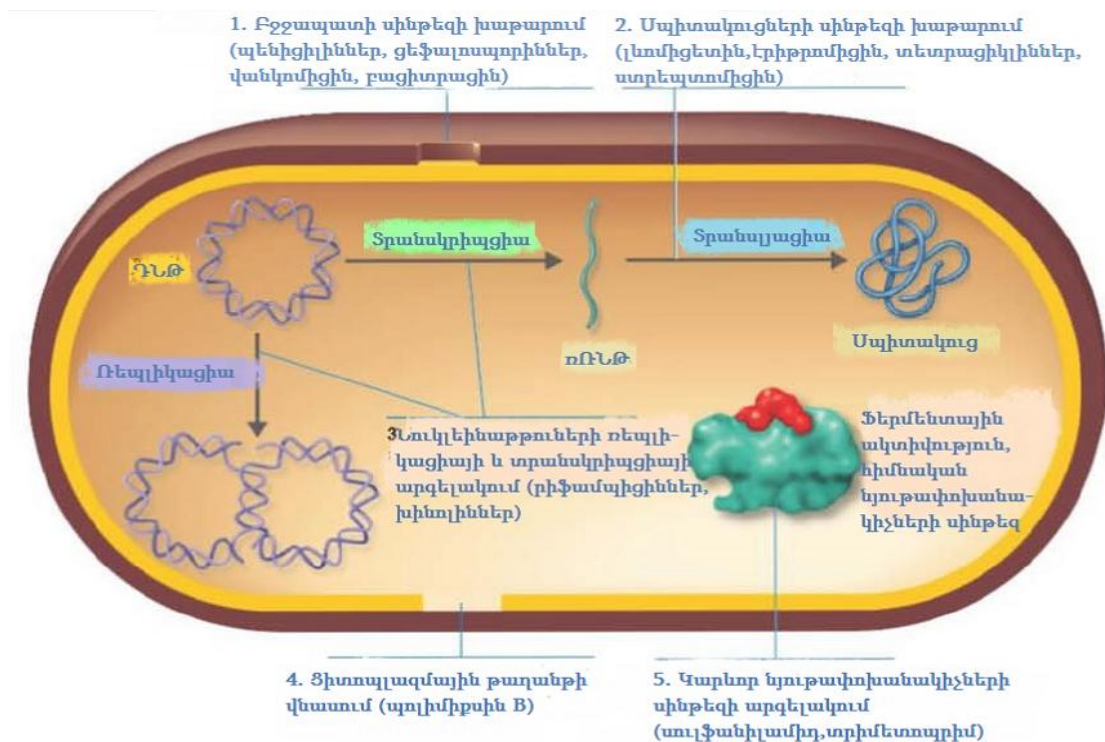
Հակաբիոտիկների ազդեցությունը սպիտակուցների սինթեզի վրա պայմանավորված է ռիբոսոմային կառուցվածքով: Եթե էուկարիոտ բջիջները ունեն 80S ռիբոսոմներ, ապա պրոկարիոտ բջիջների մոտայն 70S է՝ կազմված 50S և 30S ենթամիավորներից: Նման ազդեցության հակաբիոտիկներից են հանդիսանում տետրացիկլինները, որոնք ունեն ազդման լայն շրջանակ և արտադրվում են *Streptomyces spp.*-ի կողմից: Բակտերիական ցիտոպլազմայում տեղի է ունենում տետրացիկլինի և մաքնեզիոմի միասնական համակարգի առաջացում (Chopra and Roberts, 2001): Տետրացիկլինը առաջին հերթին փոխազդում է 16 ռՌՆԹ-ի A սայթի H34 հատվածի հետ, որը ընդգրկված է ամինոացիլացված տՌՆԹ-ի կապման մեջ: Այս համակարգը ազդում է տՌՆԹ-ների 30S ենթամիավորի հատվածում միացման վրա՝ խոչընդոտելով ամինաթթուների տեղափոխությունը և դրանց համալրումը աճող պոլիպեպտիդային շղթայում: Սա նպաստում է գենետիկական տեղեկատվության մեջ սխալի առաջացմանը և պեպտիդային շղթային սխալ ամինաթթուների միացմանը՝ բերելով ոչ ակտիվ սպիտակուցների սինթեզի:

Տետրացիկլինները առավել հաճախ կիրառվում են Շվեդիական բժշկության մեջ բետա-լակտամներից հետո (Swedres, 2007) և լայնորեն

օգտագործվում են անասնաբուժության մեջ, մասնավորապես խոզերի բուժման ժամանակ (SVARM, 2007):

Այն օգտագործվում է նաև այ գեղարծության մեջ (McManus et al., 2002) և հանդիսանում է աճման խթանիչ միջարք երկրներում, ինչպիսին է ԱՄՆ:

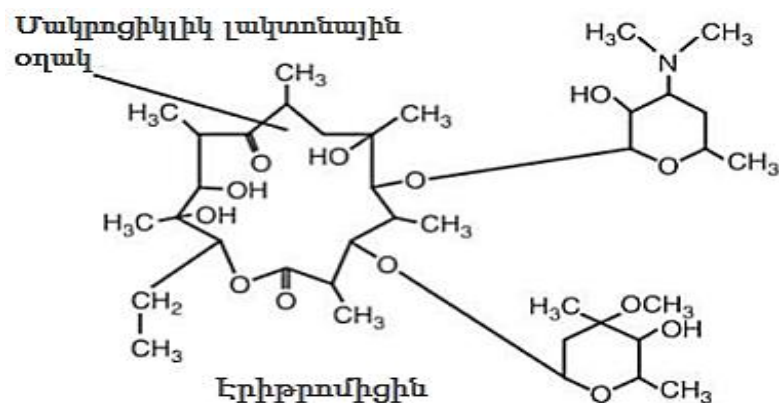
Ինչպես հայտնի է բակտերիաներին բնորոշ է պեպտիդոգլիկանային կազմով բջջապատ: Բակտերիաների բջջապատի սինթեզը խաթարող հակաբիոտիկները իրենց մոլեկուլում պարունակում են β -լակտամային օղակ (պենիցիլիններ, ցեֆալոսպորիններ): Իսկ նման հակաբիոտիկները, մասնավորապես պենիցիլինը ազդում է հենց պեպտիդոգլիկանի սինթեզի վրա՝ ճնշելով բջջապատի բաղադրիչ նյութերի սինթեզի տրանսպեպտիդազային ռեակցիան (օրինակ՝ D-ալանինի) (Страчунский и др., 2002), որը իր հերթին թուլացնում է բջջապատը և հանգեցնում է լիզիսի:



Նկ. 1.5. Հակամանրէային դեղամիջոցների ազդման հիմնական եղանակները (Tortora et al., 2010):

Պենիցիլինը արդյունավետ ազդում է ակտիվորեն կիսվող բջիջների վրա և, քանի որ մարդկանց մոտ բջիջների բջջապատը այլ բնույթի է, այս հակաբիոտիկի տոքսիկությունը լինում է նվազ:

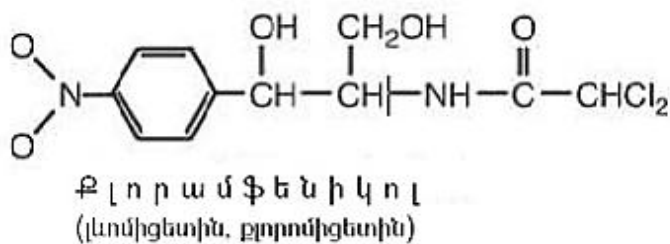
Պենիցիլինին համարժեք դեղամիջոց հանդիսանում է Էրիթրոմիցինը: Չնայած Էրիթրոմիցինը չի կարողանում թափանցել որոշ գրամ-բացասական բակտերիաների բջջապատով, սակայն իր ազդեցությամբ նման է հատկապես պենիցիլին G-ին: Այն դասվում է մակրոլիդների խմբին, որոնք պարունակում են մակրոցիկլիկ և ակտոնային օղակ և առաջին անգամ անջատվել է 1952 թ. ամերիկյան դեղագործական ընկերության գիտնականների կողմից *Streptomyces erythreus*-ից (Նկ. 1.6): Մակրոլիդները դարձել իորեն կապվում են ռիբոսոմի 50S ենթամիավորի հետ, արգելակում տրանսպեպտիդացումը, այսինքն արլիպեպտիդային շղթայի ամինոացիլ-տրանս-ի վրա տեղափոխման ռեակցիան, ինչի արդյունքում խախտվում է ամինաթթուների մուլեկուլների միջև պեպտիդային կապերի ձևավորումը և արգելակվում միկրոօրգանիզմներում սպիտակուցի սինթեզը:



Նկ. 1.6. Էրիթրոմիցինի կառուցվածքը (Tortora et al., 2010):

Բարձր դեղաչափերով օգտագործման դեպքում, կախված հարուցչի տեսակից, կարող են ցուցաբերել բակտերիցիդ ազդեցություն: Սակայն, վերջին տարիներին պենիցիլինի և Էրիթրոմիցինի արդյունավետությունը տարբեր ախտածին բակտերիական շտամների դեմ նվազել է՝ կապված այդ հակաբիոտիկների նկատմամբ միկրոօրգանիզմների ռեզիստենտության հետ (Toprak et al., 2012):

Բակտերիաստափկ ազդեցության հակաբիոտիկների թվին են դասվում նաև քլորամֆենիկոլները (լևոմիցետին, քլորոմիցետին), որոնք հատկապես լայն տարածում ունեն կապված մառչելի գնի հետ (Նկ. 1.7.): Վերջիններս ակտիվ են ինչպես գրամ-դրական բակտերիաների՝ *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, այնպես էլ գրամ-բացասական՝ *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Yersinia spp.*, *Proteus spp.*, *Rickettsia spp.*, նաև *Spirochaetaceae*-ի և որոշ խոշոր վիրուսների նկատմամբ (Lekar et al., 2011): Լևոմիցետինի առավելությունը կայանում է նրանում, որ միկրոօրգանիզմների մոտ այս հակաբիոտիկի նկատմամբ կայունությունը զարգանում է համեմատաբար դանդաղ և այն ակտիվ է պենիցիլինի, ստրեպտոմիցինի, սուլֆանիլամիդային պատրաստուկների նկատմամբ կայուն բակտերիական շտամների դեմ:



Նկ. 1.7 Քլորամֆենիկոլի քիմիական կառուցվածքը:

Նկատվում է պարզ կառուցվածք, ինչը դարձնում է այս դեղի սինթեզը շատ ավելի մառչելի, քան *Streptomyces venezuelae*-ից նրա ստացումը (Tortora et al., 2010):

Չնայած մի շարք բացասական կարծիքների՝ որոշ գիտնականներ առաջարկում են շարունակել տվյալ դեղամիջոցի կիրառումը ակնաբուժության մեջ (Isenberg, 2003):

Աղիքային խանգարումների ժամանակ օգտագործվող հակաբիոտիկներից տարածված է էնտերոֆոնիլը, որը ընդունակ է ոչնչացնելու ախտածին մանրէներին աղիքի խոռոչում՝ դրանով իսկ կրճատելով վարակիչ փորլուծությունը: Այն պարունակում է նիֆուրոքսազիդ և իր ազդեցությունը պայմանավորված է հենց այդ նյութով: Էֆեկտիվ է ինչպես գրամ-դրական (*Streptococcus aureus*, *Staphylococcus pyogenes*, *Clostridium*), այնպես էլ գրամ-բացասական

Էնտերոբակտերիաների դեպքում (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Edwardsiella*, *Citrobacter*, *Yersinia enterocolitica*):

1.5.1. Հակաբիոտիկների նկատմամբ բակտերիաների կայունությունը մեխանիզմները

Գրականության մեջ գերակշռում է այն միտքը, որ կաթնամթերքների միկրոբիոտայի գերիշխող մասը կազմող ԿԹԲ կարող են հանդիսանալ մարդու հիվանդությունների հարուցիչներին հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն գեների փոխանցման աղբյուր (Bulajic and Mijacevic, 2011): Հակաբիոտիկների լայնածավալ կիրառման ընթացքում ի հայտ են գալիս բազմաթիվ կայուն շտամներ, որոնք տարածվելով, կրճատում են բազմաթիվ հակաբիոտիկների արդյունավետությունը և օրեցօր բժշկության մեջ անհրաժեշտություն է առաջանում հայտնաբերել նոր դասի հակամանրէային դեղամիջոցներ (Parada et al., 2007):

Բակտերիաների մոտ հակաբիոտիկների նկատմամբ ռեզիստենտության զարգացման գենետիկական հիմքը կարող է հիմնված լինել երկու հիմնական գործոնների վրա: Առաջին հերթին մանրէները պետք է շփման մեջ գտնվեն հակամանրէային նյութի հետ և երկրորդը՝ պետք է զարգանա կայունություն հակաբիոտիկի նկատմամբ (Levy and Marshall, 2004): Ռեզիստենտությունը հակաբիոտիկի նկատմամբ կարող է լինել բակտերիաների տվյալ տեսակին բնորոշ և նկարագրվել որպես «բնական կամ ներքին կայունություն»: Այս պարագայում կայունությունը բնորոշ է լինում տվյալ տեսակի բոլոր շտամներին: Ի հակադրություն, կայունությունը համարվում է ձեռքբերովի, երբ սովորական զգայունության շտամները դառնում են կայուն հակամանրէային դեղի նկատմամբ (European Commission, 2008):

Հակաբիոտիկների նկատմամբ կայուն գեները կարող են տարածվել մի մանրէից մյուսին տարբեր մեխանիզմներով: Այդ գեները հիմնականում հայտնաբերվում են պրոտեոմիկալ շարժուն տարրերում, ինչպիսիք են պլազմիդները և տրանսպոզոնները, որոնք ունեն բարձր հորիզոնական տեղափոխության ընդունակություն

(Van Hoek et al., 2011): Բակտերիաների մոտ տարբերակել են գեների հորիզոնական տեղափոխության երեք մեխանիզմ (Davison, 1999): Առաջինը դա բնական վերափոխումն է, որն ուղեկցվում է արտաքցչային միջավայրից ազատ ԴՆԹ-ի կլանմամբ և միավորմամբ, երկրորդը՝ կոնյուգացիան՝ բջջային փոխազդեցությունն ԴՆԹ-կախյալ փոխանցման մեխանիզմով, որը բնորոշ է մանրէների ցեղերի մեծամասնությանը և երրորդը՝ տրանսդուկցիան, որտեղ փոխանցումը միջնորդավորված է բակտերիոֆագերով: Ենթադրվում է, որ կոնյուգացիան հանդիսանում է հակաբիոտիկ կայուն գեների փոխանցման հիմնական մեխանիզմը:

Մեկ մանրէն կարող է ձևավորել կայունություն ոչ միայն տվյալ դեղի նկատմամբ, այլ նաև նույն դասին պատկանող կառուցվածքային հարակից միացությունների նկատմամբ: Օրինակ՝ ռեզիստենտությունը տետրացիկլինի նկատմամբ *tet* (M)-ի միջոցով կարող է առաջացնել կայունություն նաև օքսիտետրացիկլինի, քլորտետրացիկլինի, դօքսիցիկլինի և մինօքսիցիկլինի նկատմամբ (Chopra and Roberts, 2001): Տետրացիկլինի նկատմամբ ռեզիստենտությունը ավելի շատ նկարագրվել է լակտոբացիլների մոտ, և ցույց է տրվել նվազագույն արգելակման խտության լայն տիրույթ՝ հավանաբար պայմանավորված տետրացիկլինի նկատմամբ կայունության փոփոխության մեխանիզմների բազմազանությամբ (Korhonen et al., 2008):

Երբեմն հանդիպում է խաչածն-ռեզիստենտություն կառուցվածքայինորեն միմյանց հետ չհամակցված հակաբիոտիկների միջև, ինչպես օրինակ՝ մակրոլիդների, լինկոզամիդների և ստրեպտոգրամիս B-ի մոտ՝ պայմանավորված *erm* գեներով (Roberts et al., 1999): Նման կայունության դրսևորում սովորաբար նկատվում է ախտածին *Streptococcus* տեսակների մոտ, որը 23S ռԴՆԹ-ում ադենինի մնացորդի N6 ամինոխմբի մեթիլացման հետևանք է: Այն ռիբոսոմում առաջացնում է կոնֆորմացիոն փոփոխություն, որը թույլ չի տալիս հակաբիոտիկին կապվել 50S ռիբոսոմային ենթամիավորի կապման կայքին: Պարզվել է, որ ԿԹՔ սովորաբար կայուն են ամինոգլիկոզիդային պատրաստուկների նկատմամբ: Ուսումնասիրվել են ամինոգլիկոզիդների (*aac* (6')-*aph* (2"), *ant* (6), և

aph(3')-IIIa) (Rojo-Bezares et al., 2006) և β -լակտամների նկատմամբ կայունություն գեները (blaZ) (Aquilanti et al., 2007), որոնք սակայն հազվադեպ են հայտնաբերվում: Կայունության համար պատասխանատու գեներից ուսումնասիրվել են նաև՝ *ermAM* (Էրիթրոմիցին), *cat* (քլորամֆենիկոլ), *str* (ստրեպտոմիցին), *sat* (ստրեպտոգրամիկ): Սովորական է այն մասին, որ β -լակտոբացիլները համարվում են կայունության պահուստային խումբ աղիներում և միաժամանակ հանդիսանում են կայունության տեղափոխիչներ (Mathur and Singh, 2005; Hummel et al., 2012; Gueimonde et al., 2013):

Կատալոկոկի և Գոգեբակենի (Cataloluk and Gogebaken, 2004) կողմից մարդուց և կաթնամթերքից մեկուսացված β -լակտոբացիլների մեծամասնության (61.961%) մոտակարգրվել է *tet* (M) և *erm* (B) գեների գերակայում: Կայուն շտամները պատկանում էին *L. acidophilus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri* and *L. plantarum* ցեղերին: *Lactobacilli*, *pediococci* և *leuconostoc spp.*-ի մոտ ցույց է տրվել բարձր աստիճանի բնական կայունություն վանկոմիցինի նկատմամբ: Վանկոմիցինը կապվում է պեպտիդոգլիկանի նախորդի՝ պենտապեպտիդի D-ալանին -D-ալանին հատվածին և կանխում է պոլիմերիզացումը: Որոշ ԿԹԲ-ում այդ ծայրային D-ալանինը փոխարինվում է D-սերինով կամ D-կաթնաթթվով՝ կանխելով վանկոմիցինի միացումը (Delcour et al., 1999), և դարձնելով այդ բակտերիային հակաբիոտիկի նկատմամբ կայուն: *Lactobacillus* ցեղի ներկայացուցիչները սովորաբար զգայուն են քլորամֆենիկոլի, Էրիթրոմիցինի և կլինդամիցինի նկատմամբ, որոնք արգելակում են սպիտակուցների սինթեզը (Coppola et al. 2005; Klare et al. 2007): Սակայն ամինոգլիկոզիդների (սեոմիցին, կանամիցին, ստրեպտոմիցին, գենտամիցին) նկատմամբ β -լակտոբացիլների մոտ գրանցվել է կայունություն:

1.6. Նիստրատների ազդեցությունը մարդու առողջության վրա

Ազոտը հանդիսանում է բույսերի կարևոր քիմիական տարրերից մեկը, քանի որ անհրաժեշտ է ամինաթթուների սինթեզմանը, որոնցից ձևավորվում են սպիտակուցները: Ազոտը բույսը ստանում է հողից հանքային ազոտային աղերի ձևով (նիտրատային և ամոնիումային):

ԲՈԼՅԱԵՐՈՒՄ ազոտը ենթարկվում է բարդ փոխակերպումների: Ազոտի նյութափոխանակությունը բՈԼՅԱԵՐՈՒՄ բարդ գործընթաց է և նիտրատները (NO_3^-) այնտեղ զբաղեցնում են միջանկյալ տեղ:



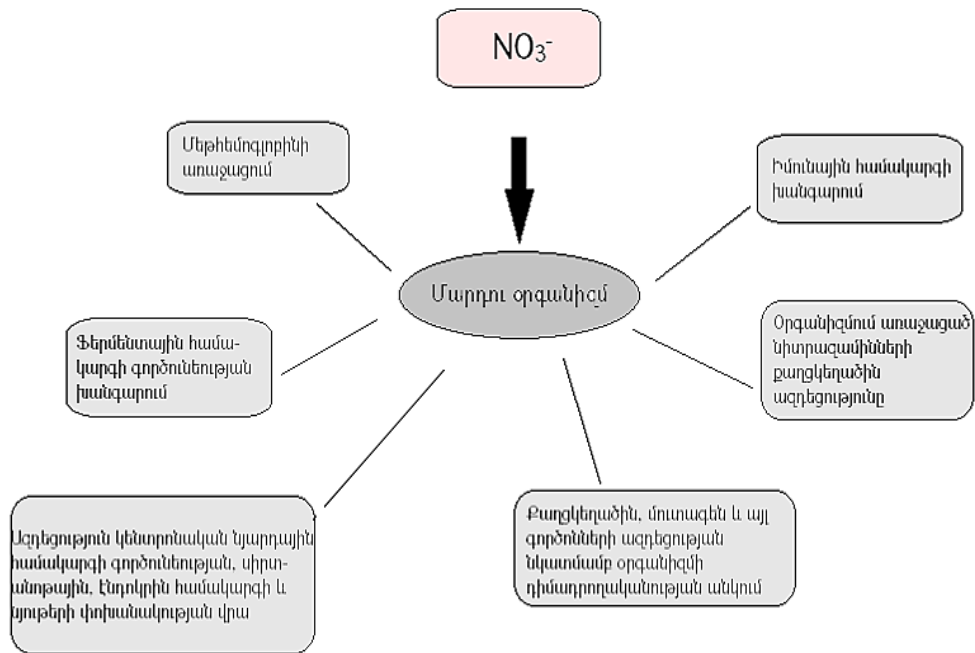
(նիտրատ) (նիտրիտ) (հիպոնիտրիտ) (հիդրօքսիլ ամին) (ամոնիակ)

Փոխակերպման այս գործընթացում մասնակցում են տարբեր մետաղներ (մոլիբդեն, երկաթ, պղինձ), տեղի է ունենում ածխաջրերի ինտենսիվ ծախս: Ածխաջրերը ապահովում են վերականգնման գործընթացները անհրաժեշտ էներգիայով: Բնության մեջ հանդիպում են նատրիումի, կալիումի, կալցիումի և այլ մետաղների նիտրատներ, որոնցից կիրառական նշանակություն ունի նատրիումի նիտրատը (NaNO_3):

Նիտրատները և նիտրիտները թողնում են իրենց ազդեցությունը մարդու օրգանիզմի վրա ուղղակի կամ անուղղակի ձևով (Նկ. 1.8.): Դա հիմնականում իրականանում է երեք տեսակի սննդային բաղադրիչների՝ բանջարեղենի, վերամշակված մսամթերքի և խմելու ջրի միջոցով (Jackzin and Gonzalez, 2006): Բանջարեղենի աճեցման ժամանակ օգտագործում են մեծ քանակությամբ պարարտանյութեր (օրինակ՝ սելիտրա): Հողի պարարտացման համար օգտագործվող սելիտրան կաթում հայտնվում է հետևյալ շղթայով՝

պարարտանյութ → հող → կեր → անասուններ → կաթ:

Սննդի խմորման գործընթացներում նիտրատները օգտագործվում են որպես միկրոօրգանիզմների աճման ավանդական արգելակիչներ: Երկարատև պահպանման ժամանակ նիտրատները պաշտպանում են մսամթերքը շուտ փչանալուց, պահպանում վերջինիս հոտը, գույնը և լիպիդների օքսիդացման գործընթացի ճնշման շնորհիվ կանխում այն կծվածությունից (Sindelar and Milkowski, 2012):



Նկ. 1.8. Նիտրատների և դրանց ածանցյալների ազդեցությունը մարդու օրգանիզմի վրա:

Սակայն նիտրատների չափազանց մեծ քանակների դեպքում աղիներում առաջանում են միկրոէկոլոգիական խանգարումներ, բիֆիդոբակտերիաների և լակտոբակտերիաների անբավարար քանակներ, որոնք հանգեցնում են այսպես կոչված «դիսբիոզի» (դիսբակտերիոզի), ինչի հետևանքով խանգարվում է նաև լիպիդային՝ հատկապես խոլեստերինի նյութափոխանակությունը:

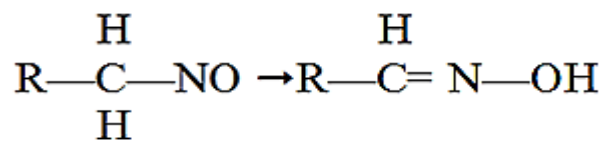
Մարդու առողջության՝ հատկապես ստամոքսի քաղցկեղի առաջացման վրա, նիտրատների վնասակար ազդեցության ուղղությամբ տարվող աշխատանքները շարունակվում են և հանդիսանում են կարևոր արդիական խնդիր: Ստամոքսի քաղցկեղի առաջացման վարկածներից մեկը հանդիսանում է տարբեր սնդամթերքների օգտագործումը, ինչպիսիք են միսը և աղ դրած ձուկը, որոնք հանդիսանում են նիտրատի կամ նիտրոզոամինների աղբյուր: Աղը խթանում է բորբոքային գործընթացները՝ հանգեցնելով ստամոքսի պաշտպանիչ լորձաթաղանթի վնասմանը և բարձրացնում ստամոքսի քաղցկեղի առաջացման վտանգը (De Roos et al., 2003; Larsson et al., 2006; Hernandez et al. 2009, Nathan et al., 2012; Peng Song et al., 2015):

Հնարավոր գործոններին, որոնք կարող են փոխել N-նիտրոզո միացությունների ազդեցությունը, վերաբերում են վիտամին C-ի պակասը կամ ծխելու սովորությունը: Աղեստամոքսային տրակտի վերաբերյալ գրեթե ոչ մի աշխատանքում համակարգված չեն տվյալներ, որոնք առնչվում են *Helicobacter pylori*-ի հետ: Սակայն դա կարևոր է՝ հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ *H. pylori*-ին իջեցնում է վիտամին C-ի մակարդակը, որը հայտնի է որպես նիտրոզոամինների ձևավորման էնդոգեն արգելակիչ (Duel et al., 2013): Վիտամին C ֆերմենտային կոֆակտոր է, որը կլանում է թթվածնի ակտիվ ձևերը, խոչընդոտում է նիտրոզոամինի ձևավորումը ստամոքսում (Tannenbaum et al. 1991), ճնշում *H. pylori*-ի աճն ու զարգացումը (Pal et al., 2011) և պաշտպանում է լորձաթաղանթի հյուսվածքները օքսիդացիոն սթրեսից (Sasazuki et al. 2008): Մյուս կողմից, կարմիր միսը հանդիսանում է երկաթի աղբյուր, որը հանդիսանում է *H. Pylori*-ի աճման էական գործոն (Annibale et al., 2003): Կարևոր է նաև հաշվի առնել գեների հետ փոխազդեցությունը, մասնավորապես նյութափոխանակային գեների պոլիմորֆիզմի երևույթը, որոնք մասնակցում են N-նիտրոզո միացությունների նյութափոխանակությանը կամ ԴՆԹ-ի գեների ռեպարացիային, որոնք նույնպես քիչ են ուսումնասիրված:

Նիտրատները աղեստամոքսային ուղիում միկրոօրգանիզմների ազդեցության տակ վերականգնվում են նիտրիտների (NO_2^-), որոնք և առաջացնում են հիմնական խնդիրները՝ նիտրատ-նիտրիտային մեթեմոգլոբինեմիայի ձևով: Նիտրիտները ամուր կապվում են էրիթրոցիտների հեմոգլոբինի հետ՝ խոչընդոտելով դեպի օրգաններ թթվածնի մատակարարումը: Այդ պատճառով խանգարվում է բջիջների և հյուսվածքների նորմալ շնչառությունը (հյուսվածքային հիպոքսիա), ինչի հետևանքով կուտակվում են կաթնաթթու և խլեւստերին, կտրուկ ընկնում է սպիտակուցների քանակությունը: Ցիանոզի՝ արյան մեջ մեթեմոգլոբինի քանակության շատացման հետևանքով իջնում է նաև զարկերակային ճնշումը: Դա հատկապես վտանգավոր է նորածին երեխաների դեպքում, քանի որ նրանց ֆերմենտային հիմքը կատարյալ չէ, իսկ մեթեմոգլոբինի վերականգնումը հեմոգլոբինի ընթանում է դանդաղ:

NO_3^- և NO_2^- սննդի մեջ հանդիսանում են անցանկալի նյութեր: Հիմնականում դա կապված է նիտրոզոամինների առաջացման հետ, որոնք ունենք քաղցկեղածին հատկություն (Gonzalez et al., 2006; Hammes, 2012, Ou et al., 2013):

Նիտրոզո միացություններն օրգանական միացություններ են, որոնց մոլեկուլում ածխածնի ատոմին միացած է նիտրոզո (NO) խումբ: Ըստ նիտրոզո խմբին միացած ածխածնի ատոմի բնույթի՝ տարբերում են առաջնային, երկրորդային և երրորդային նիտրոզո միացություններ: Առաջնային և երկրորդային նիտրոզո միացություններն իզոմերվում են՝



NO_3^- թափանցելով օրգանիզմ կարող են հանգեցնել ստամոքսում էնդոգեն նիտրոզո միացությունների առաջացմանը հետևյալ մեխանիզմով՝ $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow$ նիտրոզոամիններ (Tsugane et al., 2004, Liu and Russell, 2008): NO_3^- -ը ինքնին չեն հանդիսանում թունավոր, սակայն դրանց բակտերիական կրճատումը NO_2^- -ի հանգեցնում է ազոտային անհիդրիդների առաջացմանը, որոնք առաջացնում են նիտրոզո-իոններ: Վերջիններս փոխազդելով երկրորդային ամինների հետ ձևավորում են նիտրոզոամիններ, որոնց մեծ մասը քաղցկեղածին են: Բրայանը և իր գործընկերները (Bryan et al, 2012) համակարգված վերանայումների արդյունքում եկան այն եզրակացության, որ նիտրոզոամինների նախանյութերի համատեղ կլանման բացակայության դեպքում ոչ մի հավաստի տեղեկություն չկա կապված քաղցկեղի առաջացման հետ:

Հայտնի են ավելի քան 60 տեսակի նիտրոզոամիններ, ընդ որում պանրի և մսամթերքի մեջ լայնորեն տարածված են նիտրոզոզիէթիլամինը, նիտրոզոզիմեթիլամինը, քսանտին և թիրամին (Bourdichan, 2012): Նիտրոզոամիններից՝ նիտրոզոզիէթիլամինը և նիտրոզոզիմեթիլամինը դասակարգվել են մարդու (2A խումբ) համար խիստ քաղցկեղածին ըստ Քաղցկեղի Հետազոտության Միջազգային Կազմակերպության (ԲՀՄԿ) (IARC, 2004):

Ըստ Առողջապահության համաշխարհային կազմակերպության (ԱՀԿ)՝ նիտրատային և նիտրիտային իոնների օրական թույլատրելի չափաբաժինները կազմում են՝ 5 մգ NO_3^- և 0.2 մգ NO_2^- մեկ կգ մարմնի քաշի համար (WHO, 2011): Որոշ հեղինակներ վերամշակված մսամթերքի, աղի սննդի օգտագործումը, ավելցուկային քաղը և ճարպակալումը սերտորեն կապում են ստամոքսի և լյարդի քաղցկեղի առաջացման հետ (Mitacek et al., 2008; Immarino et al., 2013):

Չինաստանում կանանց մոտ վահանաձև գեղձի վրա նիտրատների վնասակար ազդեցության ուղղությամբ կատարվել են մի շարք հետազոտություններ: Իրականացված ուսումնասիրությունների արդյունքում պարզվել է, որ կանայք, որոնք սպառում էին մեծ քանակությամբ նիտրատ, մասնավորապես կենդանական ծագման՝ մսի տեսքով, հակված էին ունենալ ու վահանաձև գեղձի քաղցկեղ (Aschebrook-Kilfoy et al., 2013): Նույն հեղինակի կողմից, կանանց մոտ, ձվարանի և ենթաստամոքսային գեղձի քաղցկեղի զարգացման ուղղությամբ նիտրատների բացասական ազդեցության մասին նույնպես հրատարակվել են տվյալներ (Aschebrook-Kilfoy et al 2011, 2012): Իսկ ըստ Բինգհեմի և մյուսների կատարված հետազոտությունների՝ կարմիր մսի օգտագործումը առավել շատ հանգեցնում է N-նիտրոզոմիացությունների էնդոգեն առաջացմանը, քան սպիտակ մսինը (Bingham et al., 1996):

Քանի որ ԿԹԲ օժտված են սինթեզելու մի շարք կարևոր վիտամիններ, ֆերմենտներ, էկզոպոլիսախարիդներ և կենսաբանորեն ակտիվ մի շարք այլ նյութեր (O'Connor et al., 2005; Le blanc et al., 2011; Ami Patel et al., 2013), հետևաբար մեծ քանակությամբ կաթնամթերքների օգտագործումը՝ հարստացված այդպիսի ԿԹԲ, կարող է նվազեցնել աղետամոքսային խանգարումները և որոշ չափով չեզոքացնել NO_3^- ու NO_2^- վնասակար ազդեցությունը օրգանիզմի վրա (Avasilcăi and Cuciureanu, 2011, Sunkata et al., 2014):

1.7. Պահպանիչ ներք կաթնամթերքներում: Սորբինաթթու և (E200) որպես պահպանիչ

Սննդամթերքների պահպանման բնական մեթոդների հիմքում ընկած է օդի, խոնավության և միկրոօրգանիզմների թափանցման բացառումը կամ այնպիսի միջավայրի ստեղծումը, որտեղ սննդի նեխում և փչացում առաջացնող մանրէները չեն կարող գոյատևել (Plumed-Ferrer and von Wright A, 2011; Hamid et al., 2012): Սննդի արդյունաբերության մեջ, այդ թվում նաև կաթնամթերքների և մրգերի վերամշակման ընթացքում, որպես միկրոօրգանիզմների աճի ճնշման արդյունավետ արգելակիչներ օգտագործվում են տարբեր տեսակի պահպանիչներ: Պահպանիչների հիմնական նպատակն է պահպանել սննդի բնական համն ու հոտը, տեսքը, երկարացնել պահպանման ժամկետները (Dr Sanjay Sharma, 2015):

Ամենատարածված դասական պահպանիչները իրենցից ներկայացնում են թույլ օրգանական թթուներ՝ ինչպես օրինակ կաթնաթթուն, քացախա-, բենզոյա- և սորբինաթթուները: Այս մոլեկուլները ճնշում են ինչպես բակտերիական, այնպես էլ սնկային բջիջները, իսկ սորբինաթթուն ճնշում է նաև բակտերիական սպորների աճն ու զարգացումը (Alagöz et al., 2015):

Կաթնամթերքների մեջ թույլատրվում են այնպիսի պահպանիչներ, ինչպիսիք են սորբինաթթուն և նրա նատրիում-, կալիում- և կալցիումական աղերը, ծծմբաթթվային գազը և բենզոյաթթուն: Տարբեր երկրներում (Ճապոնիա, Ավստրիա) արտադրվում են կաթնամթերքներ՝ 0.06/100գ սորբինաթթվի պարունակությամբ, որի հետևանքով պիտանելիության ժամկետը երկարաճվում է մինչև 70 օր (Бредхин и др., 2010): Սորբինաթթվի Na- և K-ական աղերը ավելի հաճախ են օգտագործվում, քան հենց սորբինաթթուն: K-ական (E202) և Na-ական (E201) սորբատների ճնշող ազդեցությունը կազմում է սորբինաթթվի ազդեցության միայն 75%-ը: Քանի որ այդ պահպանիչների օգտագործումը մրգային յոդուրդների մեջ թույլատրելի է, շատ արտադրողներ կաթնամթերքների մեջ ավելացնում են միջարքայլ պահպանիչներ՝ բենզոյաթթու, էթիլային, մեթիլային, պրոպիլային, հիդրօքսի բենզոատներ, նատամիցին և դելվոցիդ՝ նպատակ ունենալով երկարացնել դրանց օգտագործման ժամկետները: Սակայն, այս մոտեցումը այդքան էլ արդյունավետ չէ, քանի որ վերջնական

մթերքը կարող է չհամապատասխանել պահանջվող շուկայական ստանդարտներին, ինչպես նաև կաթի մեջ նման նյութերի առկայությունը կարող է ազդել մերանի միկրոֆլորայի վրա (Тамим и Робинсон, 2003): Այդ պատճառով ներկայումս արգելում են մի շարք պահպանիչների օգտագործումը կամ կրճատում նրանց թույլատրելի քանակությունները, սակայն արդյունաբերության մեջ դա առաջացնում է որոշակի խնդիրներ, քանի որ միկրոօրգանիզմները դարձել են քիչ զգայուն թույլ թթվային պահպանիչների հանդեպ:

Քանի որ պահպանիչները հեշտությամբ կարող են թափանցել գրամ-դրական մանրէների բջջի մեջ, որոնք չեն կրում արտաքին թաղանթ, հետևաբար դրանց բնական կայունությունը համեմատաբար ցածր է: Իսկ գրամ-բացասական մանրէների մոտ ռեզիստենտության մեխանիզմները ավելի բարդ են, քանի որ այս միկրոօրգանիզմները ունեն արտաքին և ներքին թաղանթներ: Իսկ օրինակ՝ խմորասնկերը և բորբոսասնկերը ժամանակի ընթացքում ձեռք են բերում կայունություն ոչ միայն հակաբիոտիկների, այլ նաև պահպանիչների նկատմամբ (Sanglard, 2002): *Penicillium*, *Saccharomyces* և *Zygosaccharomyces* ցեղի ներկայացուցիչները ունակ են աճել սորբինաթթվի առկայությամբ և քայքայել K-ական սորբատները (Davidsson, 2001): Հանդիպում են դեպքեր, երբ միկրոօրգանիզմները քայքայում են պահպանիչները սպեցիֆիկ ֆերմենտների օգնությամբ: Օրինակ՝ սնկերի հիմնական տեսակների մոտ լավ ուսումնասիրված է սորբինաթթվի ֆերմենտային քայքայումը պենտադիենի (Samson et al., 1995):

Սորբինաթթուն (2,4 հեքսադիոնային թթուն՝ $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CHOH}=\text{CHCOH}$) հանդիսանում է բնական հակաբակտերիական նյութ: Առաջին անգամ սորբինաթթուն անջատվել է 1859 թ. Միլերի կողմից (Գերմանիա) արոսենու հյութից (*Sorbus aucuparia*, L. *Rocaceae*): Իսկ մի քանի ամիս անց, նրանից անկախ, Գուդինգի (ԱՄՆ) կողմից: Այն սինթեզվել է 1950 թ. և հաստատվել է նրա բարձր բակտերիաստատիկ և հակասնկային ազդեցությունը, որից հետո այն լայնամասշտաբ ձևով սկսեց օգտագործվել սննդամթերքներում որպես պահպանիչ:

Սորբինաթթուն նկարագրվում է որպես անվտանգ օրգանական միացություն, որի թույլատրելի չափաքանակը հաշվվում է 25մգ/կգ

առողջ մարդու կշռին (Lück, 1990): Այն էլայնորեն օգտագործվում է նաև կաթնարդյունաբերության մեջ պանրի և պանրային մթերքների պատրաստման ժամանակ (Гудков, 2003)՝ յուղաթթվային բակտերիաների, աղիքային ցուպիկների, էնտերոբակտերիաների զարգացումը կանխելու նպատակով:

1.7.1. Սորբինաթթվի ազդեցության մեխանիզմները

Պահպանիչների ազդեցության օպտիմալ ակտիվությունը նկատվում է ցածր pH-ի պայմաններում, որտեղ մոլեկուլները գտնվում են չլիցքավորված, չդիսոցված վիճակում, ինչը թույլ է տալիս ազատորեն թափանցել պլազմային թաղանթով և մուտք գործել բջիջ: Հետագայում, բջջում բարձր թթվայնության պայմաններում տեղի է ունենում մոլեկուլի դիսոցում, ինչի հետևանքով անջատվում են լիցքավորված անիոններ և պրոտոններ, որոնք չեն կարող թափանցել պլազմային թաղանթով: Արդյունքում, պահպանիչի մոլեկուլը շարունակում է դիսոցվել այնքան ժամանակ մինչև ապահովվում է թաղանթի pH գրադիենտի միջև հավասարակշռություն, որը հանգեցնում է բջջում անիոնների և պրոտոնների կուտակմանը (Booth and Kroll, 1989):

Ուսումնասիրվել է նաև սորբինաթթվի ազդման մեխանիզմի վրա ջերմաստիճանի գործոնը: Օրինակ՝ *Bacillus subtilis* 1A700-ի սպորագոյացման և աճի ճնշման համար փորձարկվել է սորբինաթթվի (3 միլիմոլյար (mM)) և բարձր ջերմաստիճանի (85°C 10 րոպե), ինչպես նաև այդ երկու գործոնների համատեղ արգելակման մեթոդը, որի արդյունավետությունը բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում կազմել է 46.8% սպորագոյացման և 32.9% աճման, իսկ սորբինաթթվի դեպքում՝ 93.3% և 80.4% համապատասխանաբար: Իսկ այս երկու գործոնների միաժամանակյա ազդեցությունը այդքան էլ բարձր արդյունավետություն չի ունեցել՝ 52.7% և 27.0% (Pandey et al., 2015):

Սորբինաթթունների հիմնական հականյութափոխանակային ազդեցությունները կապված են CoA-ի ֆունկցիայի հետ, որը կատալիզում է ավելի քան 130 կենսաքիմիական ռեակցիաներ, որոնց հետայն առաջացնում է սորբիլ-CoA (Tomoko Nishimaki-Mogami et al., 1991):

Սորբինաթթվի ընկճող ազդեցությունը բակտերիական բջջում պայմանավորված է նաև միկրոօրգանիզմների ֆերմենտային համակարգի վրա ազդեցությամբ: Սորբինաթթվով ճնշվող ֆերմենտներից են հանդիսանում ածխաջրածնային նյութափոխանակությանը մասնակցող՝ էնոլազները և լակտատ դեհիդրոգենազները, ինչպես նաև լիմոնաթթվային ցիկլի՝ մալատ դեհիդրոգենազները, իզոցիտրատ դեհիդրոգենազները, կետոգլյուտարատ դեհիդրոգենազները և SH խումբ պարունակող միջարթ ֆերմենտներ: Հաստատված է, որ սորբինաթթուն մրցակցային ձևով ճնշում է էնոլազը՝ կանխարգելով *Saccharomyces cerevisiae* խմորասնկի մոտգլյուկոզի խմորումը (Azukas et al., 1961):

Հայտնի է որ, սորբինաթթվի չարաշահումը մարդու առողջության վրա արտահայտվում է ալերգիկ ռեակցիաների ձևով: Բացի այդ, մարդու օրգանիզմում վնասը կայանում է ցիանկոբալամինի (վիտամին B12) քայքայմամբ, ինչը կարող է առաջացնել նյարդային բջիջների մահ և հանգեցնել բազմաթիվ նյարդային խանգարումների (Michael Davidson et al., 2005):

1.8. ԿԹ ադիեզիան ադիբային և ործաթադանթին

Առաջին անգամ մանրէների ադիեզիայի հատկության կարևորության մասին նշվեց Կլաուդ Չոբելի և Նրա աշխատակիցների կողմից 1930-ական թվականներին (Zobel and Allen, 1933): Այնուհետև, մնացած լնակյաց 30 տարիներից հետո միկրոօրգանիզմների ադիեզիայի նկատմամբ հետաքրքրությունը մեծացավ վաղ 1970-ական թվականներին: Իսկ վերջին երեք տասնամյակում բազմաթիվ գիտնականներ սկսեցին իրականացնել բազում աշխատանքներ՝ ուղղված բակտերիական բջիջների միմյանց և տարբեր մակերեսներին ամրանալու հատկության ուսումնասիրման ուղղությամբ:

Մանրէների ադիեզիան հանդիսանում է ցանկացած մակերևույթին կենսաթաղանթի ձևավորման առաջին քայլը: Բակտերիաների համար որոշակի շարժիչ ուժեր են հանդիսանում մակերեսին առկա նյութերը և անբարենպաստ պայմանների նկատմամբ դիմացկունության դրսևորումը: Երբեմն բույսերի մակերեսները և

կենդանիների մաշկը արտադրում են թույլներ՝ աստիճանաբար փոփոխելով կենսաշերտերի մակերեսները, ինչը ստեղծում է անբարենպաստ պայմաններ բակտերիաների հետ ադիեզիոն փոխազդեցությունների համար (Kang et al., 2006): Մի շարք հետազոտությունների արդյունքում գիտնականները փորձել են ադիեզիան պայմանավորել սուբստրատների ֆիզիկոքիմիական հատկություններով (Rajaraman et al., 2015), ինչպիսիք են մակերեսային լիցքերը, մակերեսային ազատ էներգիան և մակերեսային հիդրոֆոբությունը (Vadillo-Rodriguez et al., 2003): Սակայն, բակտերիական բջջի մակերեսային կազմը նույնպես ունի կարևոր նշանակություն ադիեզիայի ժամանակ (Habimana et al., 2014):

ԿԹԲ մոտ նկարագրված են տարբեր մակերեսային գործոններ, որոնք մասնակցում են ադիբային էպիթելի և այլ լորձաթաղանթների հետ փոխազդեցության պրոցեսներում: Այնպիսի հատկություններ, ինչպիսիք են շարժունակությունը, աճման արագությունը, բջջի չափը և ձևը, բջջի առաձգականությունը (Velegol and Logan, 2002) և բջջային մակերեսին լիպոպոլիսախարիդների առկայությունը (Burks and Velegol, 2003) ևս ազդում են ադիեզիայի հատկության վրա: Միկրոօրգանիզմների ադիեզիայի ունակության ուսումնասիրության օբյեկտ են հանդիսանում էպիթելային բջիջները (Horosova et al., 2006, Haghshenas et al., 2016), էրիթրոցիտները (Ofek and Doyle, 1994), լեյկոցիտները (Schiffrin EJ et al.; 1997), անօրգանական մակերեսները (Kos et al., 2003) և այլն:

Ադիների լորձաթաղանթին մանրէների ադիեզվելու ունակությունը դիտարկվում է որպես անհրաժեշտ նախապայման նրանց գաղութացման և պրոբիոտիկ շտամների ու տիրոջ օրգանիզմի միջև հետագա փոխազդեցության համար (Juntunen et al., 2001; Sugimura et al., 2011): Պրոբիոտիկների ադիեզիան ադիների լորձաթաղանթին կրում է բացառիկ կարևորություն իմունային համակարգի գործունեության և ախտածին միկրոօրգանիզմների դեմ պայքարում (Hirano et al.; 2003): Այսպիսով, ադիեզիան հանդիսանում է նոր պրոբիոտիկ շտամների ընտրության հիմնական չափանիշներից մեկը (Collado et al, 2005), որը պայմանավորում է նաև պրոբիոտիկների օգտակարությունը (Castagliuolo et al, 2005):

Աղիքային էպիթելային բջիջները արտադատում են մուցին, որը իրենից ներկայացնում է բարդ գլիկոպրոտեինային խառնուրդ: Այն հանդիսանում է լորձի գլխավոր բաղադրիչը՝ դրանով իսկ կանխելով ախտածին բակտերիաների ադիեզիան (González-Rodríguez et al., 2012): Մուցինները մակրոմոլեկուլներ են պեպտիդային միջուկով, որը միացած է օլիգոսախարիդային շղթային Օ-գլիկոզիդային կապերով: Օլիգոսախարիդները կազմված են N-ացետիլ կամ N-գլիկոլիլ նեյրամինաթթվից, ֆրուկտոզայից, գալակտոզայից, N-ացետիլ գլյուկոզամինից և N-ացետիլ գալակտոզամինից: Մուցինի շաքարային կազմը փոփոխվում է՝ կախված կենդանի օրգանիզմի տեսակից, արյան խմբից, անատոմիական տեղակայումից: Մուցինները լինում են չեզոք և թթվային, իսկ վերջիններս լրացուցիչ դասակարգվում են սիալոմուցինների կամ սուլֆամիդային մուցինների (Niv et al., 1996): Բազմաթիվ աղիքային ախտածին բակտերիաներ քայքայում են մուցինը տարբեր ձևերով, հետևաբար լորձաթաղանթի բաղադրությունը չի կարող լինել միանման բոլոր տեսակների մոտ: Հայտնի է նաև, որ *L. plantarum*-ը խթանում է MUC2 և MUC3 մուցինները, տեղի է ունենում էնտերոպաթոգեն *E. coli* ադիեզիայի ընկճում: Այս սպեցիֆիկ փոխազդեցությունը մատնանշում է պրոբիոտիկ բակտերիաների մակերեսային սալիտակուցների և լորձաթաղանթին ախտածին միկրոօրգանիզմների մրցակցային բացառման կապի մասին (Moal and Servin, 2006; Van Tassel and Miller, 2011): Տարբեր *Lactobacillus*-ների մոտ ցույց է տրվել սալիտակուցների և ադիեզինների առկայությունը, որոնք խթանում են ադիեզիայի գործընթացները լորձաթաղանթին (Velez et al., 2007): Օրինակ՝ *L. acidophilus* LB և BG2FO4 շտամների մոտ մանրէային բաղադրիչները, որոնք մասնակցում են ադիեզիային, պրոտեազ-կայուն են և ամրացված են մանրէի մակերևույթին (Chauvière et al., 1992; Coconnier et al., 1992):

Բակտերիաների մոտ ադիեզիններից առավել լավ ուսումնասիրված է MUB (լորձ կապող սալիտակուց), որը արտադրվում է *L. reuteri*-ի կողմից (Bermudez-Brito et al., 2012): Մակերեսային սալիտակուցների մասնակցությունը մարդկային ալազմինոզենի կամ էնտերոցիտների հետ փոխազդեցության ժամանակ նկարագրվել է

Bifidobacterium animalis subsp. lactis և *Bifidobacterium bifidum*-ի մոտ: Այդ սպիտակուցները կարող են որոշակի դեր ունենալ մարդու աղեստամոքսային ուղու միկրոօրգանիզմների գաղութացման ժամանակ՝ քայքայելով արտաքին մատրիքսը կամ հեշտացնելով էպիթելի հետսերտկապի առաջացումը (Candela et al., 2009, 2010; Sánchez et al., 2010): Ադիեզիոն արոցեսն ակտիվացնող սպիտակուց՝ MapA հանդիսանում է *L. reuteri* և *L. fermentum* լորձաթաղանթին կապող միջնորդ: Այս դիտարկումները ցույց են տալիս, որ լորձաթաղանթի ու ժեղացված շերտերը և աղիքային էպիթելը պատող գլիկոկալիքսը, ինչպես նաև *Lactobacillus spp.* կողմից մանրէների կապող հատվածների շրջափակումը պաշտպանում են ախտածին միկրոօրգանիզմների ներխուժումից (Voltan et al., 2007; Kim and Ho, 2010):

Կոլարոն և մյուսները (Collado et al., 2006) գնահատելով *Bifidobacterium longum* և *Bifidobacterium catenulatum* շտամների ադիեզիան մարդու աղիքային լորձաթաղանթին և համեմատելով այն սովորական թթվազգայուն շտամների ստուգիչ նմուշների տվյալների հետ, եկան այն եզրակացության, որ ուսումնասիրված 4 դեպքերից կեսի մոտ թթվակայուն տեսակները օժտված էին մարդու աղիքային լորձաթաղանթին ադիեզվելու ավելի բարձր ունակությամբ, քան թթվազգայուն շտամները: Սակայն, բիֆիդոբակտերիաների ընդունակությունը ճնշելու ախտածին միկրոօրգանիզմների ադիեզիան լորձաթաղանթին ընդհանուր առմամբ կապված չէր թթվակայունության ձեռքբերման հետ: Ավելին, թթվակայունության խթանումը կարող է հանդիսանալ զուտ միջոց բարձր կայունությամբ շտամների ընտրման համար, որոնք կարող են ծառայել որպես պրոբիոտիկ կոնկրետ ախտածինների նկատմամբ:

Պրոբիոտիկները առաջացնում են աղիքային լորձաթաղանթի որակական փոփոխություններ, որոնք խոչընդոտում են ախտածին մանրէների ադիեզիան (Kim and Ho, 2010): Յետաբերքի է, որ մանրէային բաղադրիչը ևս քայքայվում է հակամանրէային պեպտիդի, որը տիրոջը հաղորդում է հակապաթոգենային հատկություններ և ցույց տալիս, թե ինչպես մեծ մակերեսային սպիտակուցները կարող են ցուցաբերել էվոլյուցիայի առումով շահավետ պլենոտրոպ ազդեցություն (Gopal et al., 2001): Պրոբիոտիկ շտամները խթանում են

Էպիթելային բջիջներից փոքր պեպտիդների/սպիտակուցների արտազատումը, որոնք ակտիվ են ախտածին բակտերիաների, սնկերի, վիրուսների նկատմամբ: Վերջիններս կարգավորում են նաև աղիների պատնեշային ֆունկցիան: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ի պատասխան ախտածին միկրոօրգանիզմների ազդեցության առաջին հերթին սինթեզվում են α և β հակամանրեային սպիտակուցներ (ՅՄՍ), կատելիցիդիներ, C-տիպի լեկտիններ և ռիբոնուկլեազներ: ՅՄՍ-ից շատերը ֆերմենտներ են, որոնց բակտերիցիդ ազդեցությունը կայանում է բակտերիաների բջջաթաղանթի ֆերմենտատիվ կամ ոչ ֆերմենտատիվ քայքայումը (Furrie et al., 2005):

ԿԹԲ ադիեզիայի գործընթացը իր մեջ ներառում է նաև որոշ պասիվ ուժեր՝ Էլեկտրաստատիկ, հիդրոֆոբ փոխազդեցություններ, լիպոթեյխոյաթթուներ (ԼԹԹ) և այլ յուրահատուկ կառուցվածքներ: Սակայն ամբողջական գործոնների ըմբռնումը, որոնք լակտոբակտերիաների մոտ ապահովում են բջջային ադիեզիան խիստ սահմանափակ է (Abbot et al., 2007; Sun et al., 2013):

1.8.1. Ադիեզիայի մեխանիզմները: Ադիեզիններ

Մանրեային ադիեզիան, որը բերում է վարակների առաջացմանը, բաժանվում է երեք հիմնական տեսակների՝ սպեցիֆիկ ադիեզիատեր բջջի մակերեսային մոլեկուլների, սպեցիֆիկ ադիեզիա արտաբջջային մատրիքսին (ԱԲՄ) և արյան պլազմայի բջիջներին: Միկրոօրգանիզմների փոխազդեցությունը տվյալ մակերեսին միջնորդավորվում է բակտերիաների մակերեսին գտնվող ադիեզիններով և ԱԲՄ-ի վրա գտնվող ռեցեպտորներով: Ռեցեպտորներին կապվելը կարող է ակտիվացնել տեր բջջում աստիճանական ազանշանային համակարգը, որը կարող է ունենալ ինչպես դրական, այնպես էլ բացասական ազդեցություն բակտերիաների ներխուժման համար: Տարբեր տեսակի մանրէների մոտ՝ *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera* և *Salmonella enteritidis* ադիեզինները ներկայացված են բջջի մակերեսային կառուցվածքների ձևով, որոնք տարածվում են արտաքին բջջաթաղանթից և կոչվում պիլիներ կամ ֆիմբրիաներ: Վերջիններս

դասվում են սափտակուցային տիպի ադիեզիսների դասին: Լայնամասշտաբ ուսումնասիրվել է ԱԲՄ-ին բակտերիաների ադիեզիայի մոլեկուլային հիմքերը: Պարզվել է, որ այս գործընթացում ընգրկված են ինտեգրիսներ, որոնք սերում են հետերոդիմերային ($\alpha\beta$) բջջի մակերեսային ռեցեպտորների ընտանիքից և ճանաչում են ԱԲՄ յուրահատուկ ենթամոլեկուլային կառուցվածքները: Մանրեային ադիեզիսները, որոնք կապվում են ԱԲՄ հետ կոչվում են մանրեային մակերևույթային բաղադրիչներ, որոնք ճանաչում են մատրիքսին ադիեզվող մոլեկուլները (O'connell et al., 1998):

Առավել լավ ուսումնասիրված մանրե-ԱԲՄ համակարգի փոխազդեցության օրինակ է հանդիսանում *S. aureus*-ի կապվելը ֆիբրինոգենին: Ֆիբրինոգենը ճանաչվում է միշտ քտեր բջիջների ինտեգրիսների կողմից, այդ թվում թրոմբոցիտների ինտեգրին $\alpha_{IIb}\beta_3$ -ի կողմից: *S. aureus* շտամների մոտ երկու առավել լայնորեն ուսումնասիրված ֆիբրինոգեն կապող սափտակուցները կոչվում են A և B (ClfA և ClfB) կուտակող գործոններ: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ClfA կապվում է ֆիբրինոգենի γ -շղթային, մինչդեռ ClfB՝ α - և β -շղթաներին (Eidhin et al., 1998): ClfA-ն 933 մնացորդներից կազմված սափտակուց է և իր մեջ ներառում է 520 մնացորդներից բաղկացած A հատված, որը պարունակում է ֆիբրինոգեն կապող դոմեն: Այս կապող դոմենը նախորդում է սերին-ասպարտատ դիպեպտիդի հաջորդականության 154 կրկնություն ունեցող մոլեկուլային կառուցվածքին (Judy Higgins et al., 2006): Ֆիզիոլոգիական pH 7.4-ի պայմաններում ասպարագինաթթվային մնացորդների կողքային կարբօքսիլ խմբերը ենթարկվում են դեպրոտոնիզացիայի (նման պարագայում կրելով մեկ բացասական լիցք յուրաքանչյուր մնացորդի վրա) և սերինային մնացորդների կողքային խմբերը դառնում են խիստ հիդրոֆիլ: Ասպարագինաթթվային մնացորդների հաջորդականության նման տեղակայումը, որը միաժամանակ ուղեկցվում է սերինի հիդրոֆիլությամբ, հանգեցնում է ուժեղ էլեկտրաստատիկ շարժիչ ուժի առաջացմանը, որը հանում է ադիեզիսները բակտերիական բջջի մակերևույթից:

Կուտակող A գործոնը հանդիսանում է վիրուլենտության կարևոր գործոն մի շարք վարակների ժամանակ, ինչպիսիք են՝ մկների սեպսիսը, սեպտիկ հոդաբորբերը (Josefsson et al., 2001) և ճագարների վարակային էնդոկարդիտը (Vernachio et al., 2003):

Տարբեր ԿԹԲ շտամների ադիեզիայի հատկության վրա AB0 արյան խմբերի ադդեցության ուղղությամբ կատարված աշխատանքները սակավաթիվ են: Հարմաշևայի և Կովալենկոյի (Harmasheva and Kovalenko, 2006) կողմից ուսումնասիրվել են 12 շտամներ՝ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* և *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* և պարզվել է, որ արյան տարբեր խմբերի էրիթրոցիտների դեպքում ադիեզիայի միջին ցուցանիշի արժեքը (ԱՄՑ) տարբերվում է միայն երկու շտամների մոտ. *E. faecium* K-50 շտամի մոտ արյան A (II) խմբի էրիթրոցիտների դեպքում ԱՄՑ ավելի բարձր է (ԱՄՑ = 4.91±0.26), քան արյան B (III) խմբի էրիթրոցիտների մոտ (ԱՄՑ = 4.17±0.33): Իսկ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 4ո շտամի մոտ ԱՄՑ բարձր է արյան A (II) խմբի էրիթրոցիտների դեպքում (ԱՄՑ = 4.36±0.13)՝ համեմատած արյան AB (IV) խմբի էրիթրոցիտների հետ (ԱՄՑ = 3.61±0.75): Ավելի վաղ հետազոտություններ կատարվել էին հավերի ադեստամոքսային համակարգից մեկուսացված ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության ուղղությամբ: *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus fermentum* subsp. *cellobiosus* և *Lactobacillus animalis* շտամների մոտ նկատվել է լավ արտահայտված հեմագլյուտինացիա, որը յուրաքանչյուր շտամի դեպքում ճնշվում էր տարբեր շաքարներով, մասնավորապես, վերը նշված շտամների դեպքում՝ մանոզայով: Երեք շտամները առաջացնում էին հեմագլյուտինացիա հավի արյան կարմիր բջիջների հետ, բայց ոչ մարդկանց և աշխատանքի օպտիմալ պայմանները նշվում էին՝ pH 6-7, Ca²⁺ - 1 mM, Mg²⁺ - 2 mM և ջերմաստիճանը 37-42°C (Gusils et al., 1999):

Ոչ սպիտակուցային տիպի ադիեզիաները իրենցից ներկայացնում են արլիսախարիդներ, որոնք օրինակ՝ *Bifidobacterium infantis* շտամի մոտ ընդգրկվում են աղիների էպիթելային բջիջներին ադիեզվելու գործընթացում: Վերջիններս ունեն կապվելու մեծ հավակնություն կաթնասունների էպիթելային բջիջների

մակերեսին: Կապվելը տեղի է ունենում մարագ՝ *L. reuteri* ի պիդային մասի հաշվին (Collado et al., 2006):

Աղիների էպիթելային բջջիջների բնորոշ ռեցեպտորները հիմնականում սպիտակուցներ կամ գլիկոպրոտեիններ են՝ ճարպաթթուներ կապող հատվածներով: Սակայն, *E. coli* ադիեզիան էպիթելային բջջիջներին միջնորդավորվում է գլիկոլիպիդներով (գլիկոլիպիդների գումարային քանակը կազմում է էնտերոցիտների թաղանթային լիպիդների 20%), որոնք պարունակում են Galα 1-4 և Galβ մնացորդներ, ինչպես նաև մանոզ զգայուն ռեցեպտորներով, որոնք կարող են պարունակել մեկ կամ մի քանի գլիկոպրոտեիններ: Մակերեսային ռեցեպտորները կապվում են բակտերիաներին լորձի արտազատման ժամանակ: Տեր բջջի թաղանթային ընկալունակությունը պայմանավորված է բջջի հասունությամբ, տիրոջ տարիքով, էնտերոցիտների կառուցվածքով և ամբողջականությամբ:

Նկարագրվել են լակտոբակտերիաների մի քանի ադիեզիաների մոլեկուլային կառուցվածքները: Դրանց թվին են պատկանում CnBP՝ *L. reuteri*-ի մոտորը կապում է կոլագեն (Roos et al., 1996), CbsA՝ *L. crispatus*-ի մոտ, որը կապում է լամինին (Antikainen et al., 2002), SlpA՝ *L. brevis*-ի մոտ, որը կապում է ֆիբրոնեկտին (Hynönen et al., 2002), Mub՝ *L. reuteri*-ի մոտ, որը կապվում է խոզերի և հավերի աղիքային լորձաթաղանթին (Roos and Jonsson, 2002): Իսկ *L. acidophilus*-ի մոտ նկատվել է 15-kDa սպիտակուց, որը կապվում է ֆիբրոնեկտինին և 45-kDa ու 58-kDa սպիտակուցներ, որոնք կապվում են տիպ I կոլագենի հետ (Lorca et al., 2002):

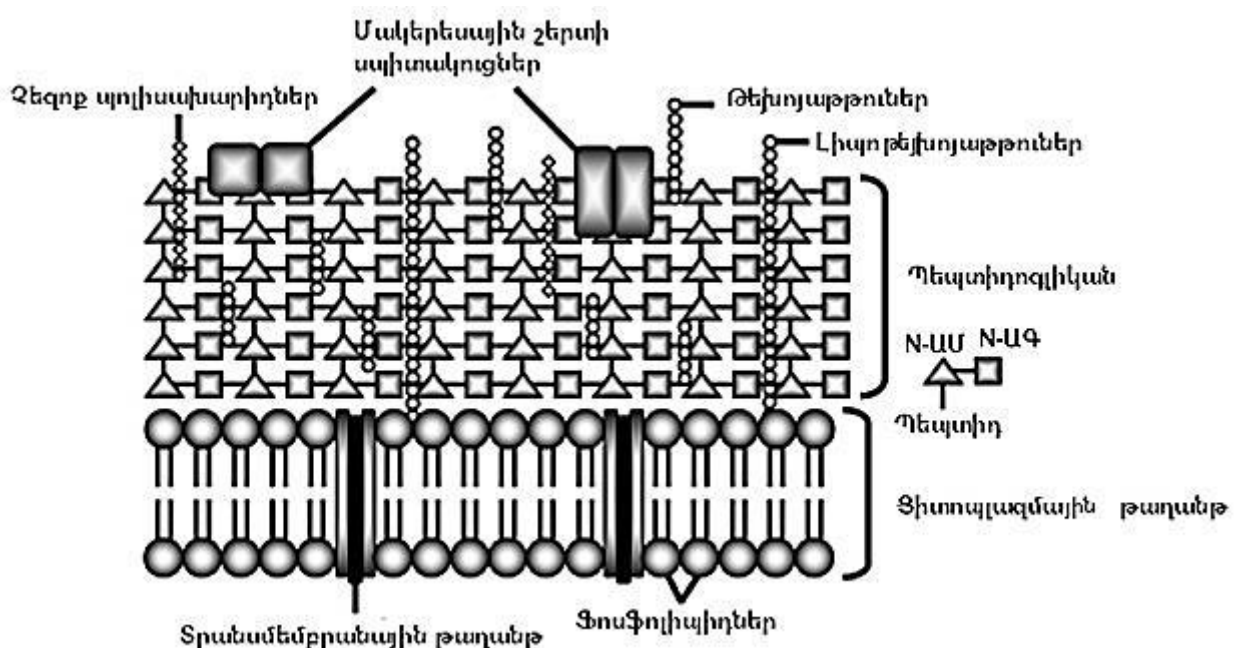
1.9. Լակտոբակտերիաների մակերեսային S-շերտի սպիտակուցներ

Լակտոբակտերիաների մակերևույթային շերտերի (S-շերտեր) սպիտակուցները հիմնականում մորֆոլոգիապես համանման, մոնոմոլեկուլային, բյուրեղային գոյացություններ են և կազմում են բակտերիաների ամբողջ բջջապատի սպիտակուցների ընդհանուր քանակի 10-15% (Նկ. 1.9) (Avall-Jaaskelainen and Palva, 2005): Սովորաբար S-շերտի սպիտակուցները թույլ թթվային են (pH 4-6) և պարունակում են մեծ քանակությամբ չլիցքավորված ամինաթթուներ (հիդրոֆոբ),

քանի որ գտնվում են բակտերիական բջջի արտաքին մակերեսին և սովորաբար կազմված են ծծումբ չ պարունակող ամինաթթուներից:

Ներկայումս GenBank-ում (Կենսաառնությունների գիտական ինֆորմացիայի ազգային կենտրոն, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) կլոնավորվել, սեքվենավորվել և ավանդադրվել են բազմաթիվ լակտոբակտերիաների S-շերտի սպիտակուց կոդավորող գեներ: Այս սպիտակուցներից մեծ մասի կենսաբանական ֆունկցիաները ուսումնասիրված են բացառությամբ հետևյալ չորս S-շերտի սպիտակուցների՝ CbsA՝ *Lactobacillus crispatus* JCM 5810-ի մոտ (Antikainen et al., 2002), Slp՝ *Lactobacillus helveticus* R0052-ի մոտ (Johnson-Henry et al., 2007), SlpA՝ *Lactobacillus brevis* ATCC 8287-ի մոտ (Hynönen et al., 2002) և FbpA՝ *L. acidophilus* NCFM-ի մոտ (Buck et al., 2005):

Կան բազմաթիվ ապացույցներ, ըստ որոնց S-շերտը կրող բակտերիաները տարբեր սթրեսային գործոններին հարմարվելու համար օգտագործում են S-շերտի այլ ընտրանքային տարբերակներ՝ հիմնականում S-շերտի սպիտակուցների ակտերնատիվ գեների արտահայտման շնորհիվ: Այդպիսի սթրեսային գործոններ կարող են հանդիսանալ օրինակ՝ տիրոջ օրգանիզմի իմունային պատասխանը ախտածին միկրոօրգանիզմների դեպքում և էկոլոգիական պայմանների կտրուկ փոփոխությունները ոչ ախտածին միկրոօրգանիզմների համար:



Նկ. 1.9. Գրամ-դրական բակտերիաների բջջապատի սխեմատիկ պատկերը (Avall-Jaaskelainen and Palva, 2005):

Նկ. 1.9.-ում պատկերված է սպիտակուցներով ներկառուցված երկլիպիդային ցիտոպլազմատիկ թաղանթ, որը ծածկված է բազմաշերտ պեպտիդոգլիկանային շերտով՝ շրջապատված չեզոք արլիսախարիդներով, *L*թթ, *S*թ և արտաքին կողմում գտնվող *S*-շերտի սպիտակուցներով, *N*-ացետիլմուրամաթթվով (*N*-ԱՄ), *N*-ացետիլգլյուկոզամինով (*N*-ԱԳ): Համարվում է, որ այս սպիտակուցները մասնակցում են ադիբային էպիթելային բջիջների, արտաբջջային մատրքիսի (de Leeuw et al., 2006) և/կամ այլ բակտերիաների *L*թթ ադիեզիային (Antikainen et al., 2002): Բացի այդ, ապացուցվել է, որ այս սպիտակուցներից շատերը արդյունավետ են էպիթելային բջիջներին ախտածին մանրէների ադիեզիայի կանխարգելման հարցում (Johnson-Henry et al., 2007):

Լակտոբակտերիաների *S*-շերտի սպիտակուցներին վերագրվող հիմնական գործառնություններից է նրանց միջնորդությունը բակտերիաների ադիեզիային տարբեր թիրախներին (էպիթելային բջիջներ, արյան կարմիր բջիջներ, խմորասնկային բջիջներ և այլն): Բակտերիական բջջի մակերեսից այդ սպիտակուցների քիմիական լվացման կամ երկարատև կուլտիվացման պայմաներում, վերջիններս այլ մոլեկուլներով ծածկման արդյունքում նկատվում է ադիեզիայի հատկության ընկճում (Jakava-Viljanen and Palva, 2007): Նման հետազոտություններ կատարվել են *L. acidophilus* JCM 1034 շտամի և *L. kefir*-ի արյան կարմիր բջիջներին հեմագլյուտինացման ռեակցիայի ժամանակ, երբ լակտոբակտերիաների բջիջները մշակվել են լիթիում քլորիդի լուծույթով, որը բջջի մակերեսից արկում է սպիտակուցները, և համեմատել լիթիում քլորիդով չմշակված ստուգիչի հետ: Նկատվել է ակնառու կապ բակտերիաների *S*-շերտի սպիտակուցների և նրանց ադիեզիայի հատկության միջև (Golowczyc et al., 2007):

Lactobacillus-ների *S*-շերտի սպիտակուցները իրենց բնորոշ սպեցիֆիկ կապման մեխանիզմից բացի ունեն մակերեսներին ամրացման ոչ սպեցիֆիկ ադդեցություն՝ պայմանավորված իրենց հիդրոֆոբության հետ: Ավելին, որոշ *Lactobacillus*-ների *S*-շերտերը

փոխում են իրենց մակերեսային հիդրոֆոբությունը ի պատասխան միջավայրի իոնային ուժերի, հավանաբար առաջարկելով կապման այլ հնարավորություններ: Օրինակ՝ *L. acidophilus* ATCC 4356-ի S_A սպիտակուցի դեպքում հիդրոֆոբության անկումը, կապված միջավայրի բարձր իոնային կազմով, ենթադրաբար արդյունք է S -շերտի սպիտակուցների կրճատման (Vadillo-Rodriguez et al., 2004):

ԳԼՈՒԽ 2. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՆՅՈՒԹԵՐԸ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐԸ

2.1. Բակտերիաներ, սննդամիջավայրեր և ռեակտիվներ

Աշխատանքում օգտագործվել են ավանդադրված ԿԹԲ 5 շտամներ՝ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» (MDC-9602), *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» (MDC-9603), *L. jugurti*₁₁₁ (MDC-9606), *Streptococcus lactis* 1304 (MDC-9607), *S. thermophilus* M₇ (MDC-9608), որոնք տրամադրվել են ՀՀ ԳԱԱ «Հայ կենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Մանրէների ավանդադրման կենտրոն հիմնարկի կողմից:

Փորձերի ընթացքում օգտագործվել են հետևյալ սննդամիջավայրերը.

Յուղազրկված կաթ

Թանգարանային նմուշների պահպանման համար ԿԹԲ շտամները աճեցվել են 10% յուղազրկված կաթում: Մինչև 40°C տաքացված թորած ջրին ավելացվել է 10% կաթի փոշի (Աշտարակ կաթ, Հայաստան), լուծույթը ֆիլտրվել է թանգիֆի օգնությամբ և 1-2 ժամ պահվել սենյակային ջերմաստիճանում: Այնուհետև ախտահանվել է ավտոկլավում՝ 1 մթնոլորտային ճնշման տակ 15 րոպե տևողությամբ: Բակտերիաները պահվել են փորձանոթներում 4-10°C պայմաններում: Վերացանքը կատարվել է 20-30 օրվա ընթացքում: ԿԹԲ մաքուր շտամների ակտիվացման համար 10% յուղազրկված կաթի մեջ երբեմն ավելացվել է 0.1% խմորասնկային լուծամզվածք և 0.1% պեպտոն: Մանրէազերծումը կատարվել է նույն պայմաններում:

25% յուղայնուլթյամբ կաթ

Հետազոտությունների կատարման ընթացքում բակտերիաները աճեցվել են նաև 25% յուղայնուլթյամբ կաթի փոշուց ստացված լուծույթում (Աշտարակ կաթ, Հայաստան): Կաթը մանրէազերծվել է 121°C, 20ր տևողությամբ:

Դե Ման, Ռոգոզա Շարփ(ՄՈՇ) (HiMedia, Մոլմբայ, Հնդկաստան):

Կազմը՝ պեպտոն (10 գ/լ), տավարի մսի լուծամզվածք (10 գ/լ), խմորասնկային լուծամզվածք (5 գ/լ), գլյուկոզ (20 գ/լ), տվին 80 (1

գ/լ), կիտրոնաթթվային ամոնիում (2 գ/լ), քաղցաթթվային նատրիում (5 գ/լ), MgSO_4 (0.1 գ/լ), MnSO_4 (0.05 գ/լ), K_2HPO_4 (2 գ/լ): Սննդամիջավայրի pH -ը՝ 6.5 ± 0.2 : Մանրէազերծվել է 116°C , 20ր: Պինդ սննդամիջավայր ստանալու համար ՄՌԾ-ին ավելացվել է 12 գ/լ ազար (de Man et al., 1960):

Մսաթարոնային ազար պատրաստելու համար օգտագործվել են՝

Պեպտոն - 10 գ

Կերակրի աղ (NaCl) - 5 գ

Ազար - 20 գ

Մսային արգանակ - 1 լ

pH – 7.2-7.4

1 լ իտր մսային ջրին ավելացվում է 10 գ պեպտոն և 5 գ նատրիումի քլորիդ, անընդմեջ խառնվում է մինչև բոլոր բաղադրիչ նյութերի լուծվելը: Ֆիլտրված մսային արգանակին ավելացվում է 20 գ ազար-ազար և ապահովում թույլ հիմնային միջավայր՝ pH 7.2-7.4: Ախտահանումը իրականացվում է 121°C , 30ր:

Յիդրոլիզացված կաթ (Ерзинкян, 1971)

1 լ իտր 85°C ջերմաստիճանում 10 րոպե տևողությամբ ախտահարված և մինչև 45°C սառեցված կաթին ավելացվել է 1 գ պանկրեատինի փոշի և լուծույթի pH կարգավորվել է մինչև 7.6-7.8 (NaHCO_3 -ով): Պատրաստված լուծույթին ավելացվել է 5 մլ քլորոֆորմ և դրվել $42-45^\circ\text{C}$ թերմոստատ: Մի քանի անգամ այդ խառնուրդով կոլբայի պարունակություները թափահարվել է՝ քլորոֆորմի գոլորշիների հեռացման համար: 72 ժամ հետո հիդրոլիզատը ֆիլտրվել է սկզբում բամբակե, հետո թղթե թանգիֆով: Այնուհետև նոսրացվել է սովորական ջրով 2 անգամ և մանրէազերծվել 121°C , 20 րոպե տևողությամբ: Պինդ սննդամիջավայրի համար ավելացվել է ազար-ազար 14 գ/լ:

Խմորանկային լուծամզվածք ստանալու համար օգտագործվել է 400 գ մամլած չոր շաքարասնկեր, կամ մածուկ, այնուհետև ավելացվել է 1 լ ջուր և մշակել 100°C ջրային բաղնիքում 0.5 ժ, ֆիլտրվել է և ենթարկվել մանրէազերծման 0.5 մթնոլորտ ճնշման տակ, 20 ր:

Յեմոլի հսիկ հապկությունները որոշվել են հալված մսապեպտոնային ագարին (pH 6.8-7.0), որը սառեցվել է մինչև 40-42°C, ավելացնելով 5% դեֆիբրինացված ոչ խարի արյուն, այնուհետև և՛ ավառնվել է և՛ լցվել Պետրիի թասերի մեջ: Սառչելուց հետո բաժանվել է սեկտորների, վրան ցանվել 16-17-ժամյա հեղուկ միջավայրում ֆերմենտացված փորձարկվող շտամը և պահվել մեկ օր 40°C:

Աշխատանքի կատարման ընթացքում օգտագործվել են հետևյալ նեակտիվները.

Ֆիզիոլոգիական լուծույթ՝ 0.96% (գ/ծ) NaCl ջրային լուծույթ:

Ֆորմալին 3% և 40% լուծույթներ:

Ֆոսֆատային բուֆեր՝ 200 մմոլ, pH 7.3: Նախապես պատրաստվում են KH_2PO_4 -ի և K_2HPO_4 -ի 200 մմոլ լուծույթներ: KH_2PO_4 -ի վրա ավելացվում է K_2HPO_4 ՝ մինչև ցանկալի pH: Մանրէազերծվում է 121°C, 20 ր:

D- մաննոզայի 1% լուծույթ:

Ֆոսֆատային բուֆեր՝

Na_2HPO_4	- 1.2 գ
KH_2PO_4	- 0.41 գ
NaCl	- 9.0 գ
Թորած ջուր	- 1 լ
pH	- 7.2

Տրիս-HCL բուֆեր: Պատրաստվում է տրիսի համապատասխան մոլյարության լուծույթ (10, 30 մՄ), այնուհետև HCl-ի կամ NaOH-ի միջոցով pH-ը կարգավորվում է մինչև համապատասխան արժեքը:

ԱԵՏ (տրիսային աղ), ԴՑԿԴ, ԷԴՏԶ, ԴԹՏ, տրիսամփնոմեթան (տրիս) (Carl Roth, Գերմանիա, կամ Sigma, ԱՄՆ):

NaNO_3 , KNO_3 , KCl, CaCl_2 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaHCO_3 (Merck, Գերմանիա) և այլ նյութեր:

Օգտագործվել են երեք տեսակի արյան նմուշներ՝ մարդու, խոշոր եղջերավոր կենդանու (կով), մանր եղջերավոր կենդանու (ոչխար), որոնցից պատրաստվել է Էրիթրոցիտների 3% կախույթներ:

2.2. ԿԹՔ աճեցումը

Բակտերիաները պահպանվել են 10% յուղազերծ կամ 25% յուղայնությամբ կաթում՝ ամիսը մեկ անգամ փոխացանք կատարելու միջոցով: Հետազոտության նկատմամբ աճեցվել են ՄՌՇ (De Man et. al., 1960) հեղուկ սննդային միջավայրում (Merck, Գերմանիա կամ Himedia, Ռուսաստան) 22-24°C, կամ ՄՌՇ ագարով պետրիի թասիկների վրա 48-72°C 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում, եթե այլ ջերմաստիճան հաջորդիվ նշված չէ: Միջավայրի pH-ը պահպանվել է 6.5-6.6 սահմաններում:

Երկարատև պահպանման համար ԿԹՔ պահվել են սառցախցիկում՝ 32°C ջերմաստիճանում, ՄՌՇ սննդամիջավայրում, որին ավելացվել է գլիցերոլ (Նկ. 2.1.):

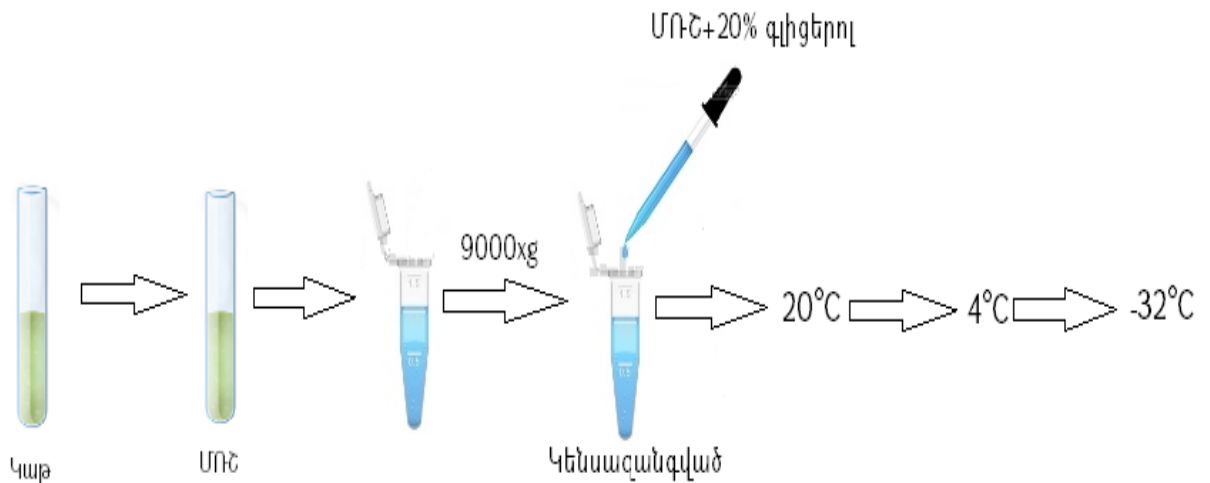
ԿԹՔ տարբեր շտամների աճը գնահատվել է դրանց կախույթի օպտիկական խտության (ՕԽ) չափման միջոցով GENESYS 10S UV-VIS (Thermo Scientific, Ուոլթեմ, Մասսաչուսեթս, ԱՄՆ) սպեկտրոֆոտոչափիչի օգնությամբ՝ 595 նմ երկարությամբ լույսի ալիքի ներքո:

Միջավայրերի և բակտերիաների կախույթների pH-ը որոշվել է Knick 766 (Knick, Բեռլին, Գերմանիա) pH չափիչի միջոցով: Այն կարգավորվել է 40% NaOH-ի, կամ 12 մոլյար անոց HCl-ի լուծույթների փոքր քանակների միջոցով:

2.3. ԿԹՔ երկարատև պահպանումը

ԿԹՔ մաքուր կուլտուրաների երկարատև պահպանումը իրականացվել է սառեցման եղանակով: Այդ նպատակով կաթում նախապես աճեցված ԿԹՔ շտամները տեղափոխվել են հեղուկ ՄՌՇ սննդամիջավայր և կուլտիվացվել 24 ժամ: Դրանից հետո կուլտուրալ հեղուկը տեղափոխվել է Էպենդորֆների մեջ, ապա կենտրոնախուսվել 9000×g արագացմամբ 5 րոպե տևողությամբ:

Վերնստվածքը հեռացվել է, իսկ բջջային նստվածքը լուծվել է 20% գլիցերոլ պարունակող ՄՌՇ սննդամիջավայրում: Նմուշները



Նկ. 2.1. ԿԹԲ մաքուր կուլտուրաների պահպանման գործընթացը:

պահվել են սենյակային ջերմաստիճանում (20°C) մեկ օր, այնուհետև տեղափոխվել և պահվել են սառնարանում (4°C) ևս մեկ օր, որից հետո երկարատև պահպանման համար տեղափոխվել են սառցե խցիկ (-32°C) (Նկ. 2.1.):

2.4. ԿԹԲ աճման տեսակարար արագության որոշումը

Բակտերիաների աճին հետևել ենք չափելով Օհ-ը UV-Visible Auto (Labomed, ԱՄՆ) կամ CՓ-4 (Օպտիկամեխանիկական արտադրական միավորում, ք. Սանկտ-Պետերբուրգ, Ռուսաստան) տեսակի սպեկտրոֆոտոչափիչների միջոցով՝ յուրաքանչյուր կես ժամը մեկ: Աճման տեսակարար արագությունը որոշվել է աճի լոգարիթմական փուլում, այսինքն, երբ ժամանակի ընթացքում օպտիկական խտության փոփոխությունը կրել է գծային բնույթ: Աճման տեսակարար արագությունը՝ μ -ն, հաշվարկվել է հետևյալ բանաձևով (Թռչունյան և ուրիշն., 2012)

$$\mu = 0,693/g$$

որտեղ g -ն Օհ կրկնապատկման ժամանակն է, իսկ μ -ն արտահայտվում է h^{-1} , կամ d^{-1} չափման միավորներով:

2.5. ԿԹԲ թթվայն նու թյ ան որոշումը ըստ Թյ որների (°Թ) աստիճանի

ԿԹԲ թթվառաջացման ընդունակությունը որոշվել է ըստ Թյ որների տիտրման մեթոդի (Turner and Beach, 1904; Hakobyan et al., 2016): 10մլ կաթին ավելացվել է 2-3 կաթիլ ֆենոֆտալեին և 20մլ թորած ջուր: Խառնուրդը պահվել է 37°C: Տիտրումը իրականացվել է 0.1 մոլ /L⁻¹ NaOH-ի լուծույթով՝ մինչև թույլ վարդագույն երանգավորումը: Արդյունքները արտահայտվել են ըստ Թյ որների աստիճանի (°Թ) և հաշվարկվել հետևյալ բանաձևով՝ $K=10x$, որտեղ K -ն թթվառաջացման աստիճանն է, x - ծախսված NaOH-ի քանակությունը (մլ), 10-ը՝ մլ °Թ-ի վերածելու գործակիցը:

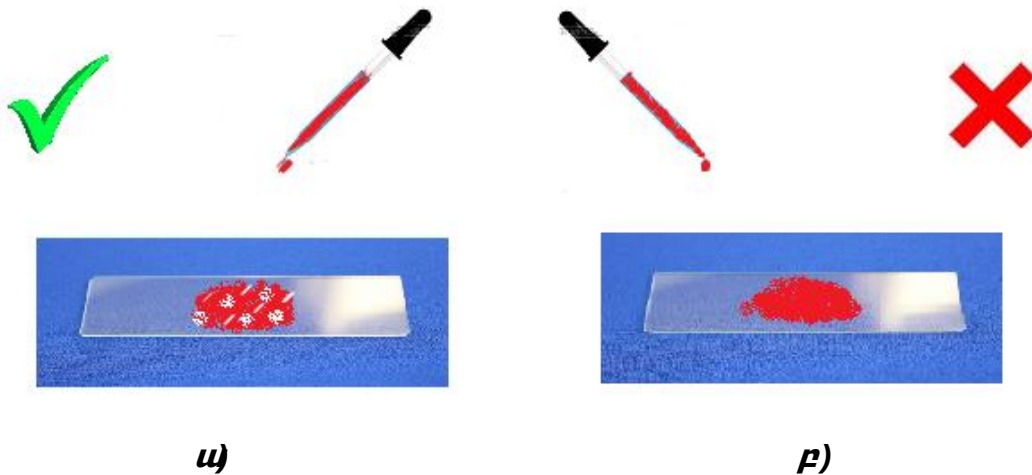
2.6. ԿԹԲ ադիեզիայի հատկություն ու սուլմնասիրություն և ադիեզիաների որոշում

ՀՀ ԱՆ Ա.Բ. Ալեքսանյանի անվան համաճարակաբանության, վիրուսաբանության և բժշկական մակաբուծաբանության գիտահետազոտական ինստիտուտում թվով հարյուր պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների (*Klebsiella*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* և այլն) և թվով քսան ԿԹԲ շտամների վրա ուսումնասիրվել է ադիեզիվությունը՝ D-մաննոզա կայուն հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի օգնությամբ: Դրական հեմագլյուտինացիայի ժամանակ ավելացվել է 1% D-մաննոզա: Եթե կրկին ստացվել է դրական ռեակցիա, դավկայել է CFA գաղութացնող գործոնի առկայության մասին: Եթե ռեակցիան եղել է դրական՝ մարդու և խոշոր եղջերավոր կենդանիների էրիթրոցիտների հետ, ապա առկա է CFA I գաղութացնող գործոնը: Եթե բացասական է մարդու էրիթրոցիտների հետ ու դրական խոշոր և մանր եղջերավոր կենդանիների էրիթրոցիտների հետ, ապա առկա է գաղութացնող CFA II գործոնը (Հարությունյան և ուրիշն., 2015):

Բակտերիական բջիջների ադիեզիայի հատկություն ու սուլմնասիրություն համար կիրառվել է հեմագլյուտինացիայի

ռեակցիան՝ տարբեր տեսակի կենդանիների և մարդու էրիթրոցիտների կիրառմամբ: Հեմագլյուտինացիայի դրսևորումը արյան կարմիր բջիջներից առնվազն մեկի հետ վկայում է մանրէների ադիեզիոն գործոնների առկայությունը մասին:

Էրիթրոցիտների պատրաստումը ֆորմալինի մեջ տեղի է ունեցել հետևյալ ձևով. որոշակի քանակությամբ արյուն (մարդու, ոչխարի, կովի) ենթարկվել է դեֆիբրինիզացիայի և ֆիլտրվել էրիթրոցիտների 8%-ոց կախույթի վերջնական կոնցենտրացիայի:



Նկ. 2.2. Հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի օրինակ ապակու վրա. ա) ադիեզիայի առկայություն, բ) ադիեզիայի բացակայություն

Այնուհետև պատրաստվել է 3% ֆորմալինի լուծույթ և ավելացվել 8%-ոց էրիթրոցիտների զանգվածին: Լուծույթը իսկուբացվել է 37°C-ում 24 ժամ, որից հետո ցենտրիֆուգվել է երեք անգամ 2500×g արագացմամբ և երեք անգամ լվացվել ֆոսֆատային բուֆերի ($1.2 \text{ g l}^{-1} \text{ Na}_2\text{HPO}_4$; $0.4 \text{ g l}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$; $9.0 \text{ g l}^{-1} \text{ NaCl}$) լուծույթով: Նստվածքի ծավալը բուֆերով հասցվել է սկզբնական մակարդակին և ավելացվել է 40% ֆորմալինի լուծույթ՝ կազմելով էրիթրոցիտների 0.5% վերջնական լուծույթ: ԿԹՔ ադիեզիան էրիթրոցիտների վրա գնահատվել է ապակու վրա (Նկ. 2.2.):

2.7. ԿԹՔ հակաբակտերիական ակտիվության ուսումնասիրումը

ԿԹՔ հակաբակտերիական ակտիվության որոշման համար որպես թեստ-օրգանիզմներ օգտագործվել են հետևյալ

միկրոօրգանիզմները՝ գրամ-դրական *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Mycobacterium phlei*, գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium*, *Salmonella paratyphi*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*: ԿԹԲ հակաբակտերիական ազդեցությունը գրամ-դրական և գրամ-բացասական ախտածին մանրէների նկատմամբ ուսումնասիրվել է մսապեպտոնային ագարի սննդամիջավայրում դիֆուզիայի մեթոդով (Papagianni et al., 2006)՝ որոշ փոփոխություններով: Նախապես պատրաստվել են թեստ-օրգանիզմների գիշերային աճի կուլտուրաներ: Դրանց կախույթը (100 մկլ) լցվել է Պետրիի թասերի մեջ, ապա ավելացվել է ագարե սննդամիջավայր (45-50°C) և զգուշորեն թափահարվել: Պնդանալ ուց հետո, ստերիլ պայմաններում սննդամիջավայրում բացվել են 6մմ տրամագծով անցքեր, որոնց մեջ կաթեցվել են (100 մկլ) նախապես կաթում և ՄՌԾ-ում աճեցված ԿԹԲ կախույթ (10⁷ ԳԱՄ/մլ), pH-ը NaOH-ի խիտ լուծույթի միջոցով կաթեցնելուց առաջ հասցվել է 6.5: Պետրիի թասերը 1 ժամ պահվել են սենյակային ջերմաստիճանում՝ հակամանրեային նյութերի դիֆուզիայի համար, այնուհետև ինկուբացվել 24 ժամ, 37°C ջերմաստիճանում: Այնուհետև չափվել են թեստ-օրգանիզմների աճի ճնշման գոտիները: Առնվազն 2 մմ եզրագծով աճի ճնշման գոտին ընդունվել է որպես դրական:

2.8. ԿԹԲ զգայուն նության որոշումը հակաբիոտիկների նկատմամբ

ԿԹԲ զարգացման վրա հակաբիոտիկ նյութերի (լևոմիցետինի, էրիթրոմիցինի և էնտերոֆուրիլի՝ 0.001-0.004%) ազդեցությունը որոշելու համար մանրէազերծ թորած ջրի մեջ պատրաստվել են տարբեր խտության լուծույթներ, որոնք լցվել են մանրէազերծ կաթի մեջ, ցանվել փորձարկվող շտամներով և պահվել կուլտուրայի աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճանում: Որպես ստուգիչ հանդիսացել է հակաբիոտիկներ պարունակող մանրէազերծված յուղազերծ կաթը՝ առանց կուլտուրայի: 7-10 օրից հետո կատարվել է մակարդված շտամների մանրադիտակային հետազոտություններ, որոշվել կաթի մակարդումը և տիտրվող թթվությունը:

2.9. ԿԹԲ զարգացման վրանհետադարձի ազդեցությունը որոշումը

ԿԹԲ դիմացկունությունը նիտրատների նկատմամբ որոշվել է կաթում՝ նախապես դրան ավելացնելով որոշակի խտություններով նիտրատների լուծույթներ: Այդ ընթացքում որոշվել է մորֆոլոգիական, օրգանոլեպտիկ, կաթը մակարդելու և թթվառաջացման հատկությունները:

Նիտրատների (NaNO_3 , KNO_3) չափաքանակները 1 լիտր կաթում եղել են 0.2-2%: Որպես ստուգիչ ծառայել է մանրէազերծ կաթը առանց նիտրատների: Կաթին ավելացվել է 1% հետազոտվող կուլտուրա և դրվել թերմոստատ 37°C : Հետազայում, հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով ուսումնասիրվել է նիտրատների տարբեր կոնցենտրացիաների կորելյացիոն կապը պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության դրսևորման վրա:

2.10. Սորբինաթթվի ազդեցությունը ԿԹԲ զարգացումը

Պրոբիոտիկ ԿԹԲ դիմացկունությունը սորբինաթթվի հանդեպ որոշվել է կաթում՝ նախապես նրան ավելացնելով որոշակի քանակներով սորբինաթթու: Այդ ընթացքում որոշվել է նրանց մորֆոլոգիական, օրգանոլեպտիկ և թթու առաջացնելու հատկությունները: Թթվությունը որոշվել է թյուրների եղանակով (Turner and Beach, 1904):

Կաթում սորբինաթթվի չափաքանակները եղել են 0.2-2%: Որպես ստուգիչ եղել է մանրէազերծ կաթը առանց սորբինաթթվի: Կաթը մակարդվել է 1% հետազոտվող կաթնաթթվային բակտերիայի կախույթով:

2.11. ԿԹԲ «ուղիղ» թաղանթային բշտիկների ստացումը

ԿԹԲ-ից՝ մասնավորապես *L. acidophilus*-ի պրոտոպլաստները, մեր դեպքում՝ «ուղիղ» թաղանթային բշտիկները ստացվել են Քյոնինգսի և Բեբակի մեթոդով (Konings and Kaback, 1973): Նախապես աճեցված

բակտերիաների կախույթները ցենտրիֆուգվել են 5000 պտրոպե արագությամբ 20 րոպե տևողությամբ, 4°C-ում: Բակտերիաների նստվածքը 2 անգամ լվացվել է 10 մՄ տրիս-HCl բուֆերում (pH 8.0): Երկրորդ փուլում, բակտերիաների զանգվածից 1 մլ տեղափոխվել է փոքր ծավալով (5 մլ) 30 մՄ տրիս-HCl բուֆեր (pH 8.0), որը պարունակում է 10 մՄ նատրիումի ԷԴՏԲ, 0.5 մՄ $MgCl_2$, 20% սախարոզ, 0.5 մգ/մլ լիզոցիմ: Բակտերիալ բջջապատի քայքայումը կատարվել է ցածր (-2-(-3)°C) ջերմաստիճանում, մագնիսական խառնիչի վրա, 30-45 րոպեի ընթացքում: Արդյունքում ստացված պրոտոպլաստները ցենտրիֆուգվել են 15 րոպե 5000 պտր արագությամբ: Այնուհետև դրանք (1 մլ) լուծվել են փոքր ծավալով (9 մլ) 10 մՄ տրիս-HCl բուֆերում (pH=6.6), որը պարունակում է 2 մՄ $MgSO_4$, 10 մկգ/մլ ԴՆԹ-ազա 1 և քանդվել արագ դիսպերսիայով: Դիսպերսիան կատարվել է 18 չափի ներմաշկային ներարկիչի օգնությամբ: Ստացված լիզատը պահվել է 30 րոպե թափահարիչի վրա 37°C ջերմաստիճանում: 15 րոպե անց ավելացվել են 5 մՄ $MgSO_4$ և 20 մկգ/մլ ԴՆԹ-ազա 1: Լիզատի ինկուբացումը շարունակվել է 15 րոպե, որից հետո բակտերիաների կախույթը ցենտրիֆուգվել է 1 ժամ 500 պտրոպե (կամ մոտ 800 g՝ կախված ցենտրիֆուգի ռոտորի տեսակից) արագությամբ: Վերնստվածքային հեղուկից թաղանթները նստեցվել են 28000 պտրոպե (կամ մոտ 46000 g) արագությամբ ցենտրիֆուգմամբ:

2.11.1. Սափտակուլցի որոշումը Լոուրիի մեթոդով

Լոուրիի մեթոդը հանդիսանում է բակտերիաների թաղանթային բշտիկներում պարունակվող սափտակուլցի քանակի որոշման ամենատարածված մեթոդներից մեկը, որտեղ որպես ստուգիչ օգտագործվում է ցուլի շիճուկային ալբումինը (Lowery et al., 1951):

50-100 մկգ սափտակուլցի պարունակությամբ բակտերիաների կախույթը Na-դեզօքսիլուատի (ԴՕԽ) 1% լուծույթով հասցվել է 0.4 մլ-ի և ավելացվել 2 մլ ռեակտիվ 3-ին (նատրիումի կարբոնատի և պղնձի սուլֆատի լուծույթ): 10 րոպե անց ավելացվել է 0.2 մլ ֆոլինի ռեակտիվ (կրկնակի անգամ նոսրացված), լուծույթը խառնվել է և 30-40 րոպե անց չափվել օպտիկական խտության արժեքը CՓ-4 տիպի սպեկտրաֆոտոչափով՝ 750 նմ երկարության լույսի ալիքի

տիրույթում: Տրամաչափիչ կորի կառուցման համար 6 սրվակներում լցվել է համապատասխանաբար 0.04; 0.08; 0.16; 0.24; 0.32 և 0.4 մլ ալբումինի (1 մլ -ում 0.25 մգ սպիտակուցի պարունակությամբ) լուծույթ և թորած ջրով հասցվել մինչև 0.4 մլ-ի: Հետագամշակումը կատարվել է ինչպես հետազոտվող նմուշների դեպքում: Ռեակցիայի արդյունքում լուծույթը ձեռք է բերել կապույտ գունավորում:

Կառուցվել է տրամաչափման կոր. ստացված ՕԽ արժեքները տեղադրվել են օրդինատների, իսկ սպիտակուցի քանակը՝ աբսցիսների առանցքի վրա:

2.11.2. Բակտերիաների թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվություն որոշումը

ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը որոշվել է թաղանթային բշտիկների հետ ԱԵՖ-ի ռեակցիայի արդյունքում անջատված անօրգանական ֆոսֆատի ($\text{F}_{\text{անօրգ}}$) քանակի հաշվարկի միջոցով (Tausky and Shorr 1953): ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն արտահայտվում է միավոր ժամանակում սպիտակուցի միավոր քանակից անջատված $\text{F}_{\text{անօրգ}}$ -քանակով:

Ռեակցիոն խառնուրդը պարունակել է 3-5 մՄ ԱԵՖ, 2.5 մՄ MgSO_4 , 1 մՄ KCl , 50 մՄ տրիս- HCl բուֆեր (pH 6.5; 37°C): Ռեակցիան կանգնեցվել է 10-15% եռքլորօքսալիպթի (ԵՔՔ) միջոցով: Թաղանթային բշտիկները նստեցվել են ցենտրիֆուգմամբ 6000 պ/ր արագությամբ 20 րոպե տևողությամբ և վերնստվածքային հեղուկում որոշվել է $\text{F}_{\text{անօրգ}}$ -քանակը:

$\text{F}_{\text{անօրգ}}$ -քանակը որոշվել է Տաուսկի և Շորի գունաչափիչ մեթոդով (Tauski and Shorr, 1953): Ֆոսֆոռեազենտի ավելացումից, թափափարումից ու պահպանումից հետո, UV-Visible Auto (Labomed, ԱՄՆ) կամ ՇՓ-4 (Օպտիկամեխանիկական արտադրական միավորում, ք. Սանկտ-Պետերբուրգ, Ռուսաստան) տեսակի սպեկտրոֆոտոչափի միջոցով չափվել է լուծույթի ՕԽ-ն, 710 նմ լույսի ալիքի երկարության ներքո: Արդյունքում կառուցվել է ՕԽ-ից $\text{F}_{\text{անօրգ}}$ -ի կախվածության տրամաչափման կորը:

ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը որոշվել է նաև ԴՑԿԴ-զգայուն բաղադրամասերի և նիտրատների համար: Համեմատվել են ԴՑԿԴ և NaNO_3

առկայ ությամբ և բացակայ ությամբ մեծություների տարբերությունները: Այս փորձերում թաղանթային բշտիկները մշակվել են համապատասխան քանակով H_2SO_4 -ով և NaNO_3 -ով 10 րոպե տևողությամբ մինչև ԱԵՖ-ի ներմուծումը: Բակտերիաները աճեցվել են pH 6.5-ում, ինչպես նաև փոփոխական լուծույթի pH-ը հասցվել է 6.5-ի:

2.12. Փորձերի արդյունքների մշակումը

Տարբեր ընկճող նյութերի ազդեցությամբ ուսումնասիրված պրոբիոտիկ ԿԹԲ արհեստական հատկության վերաբերյալ տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական մշակման: Մասնավորապես Սթյունդենթի *t*-թեստի միջոցով փորձերի արդյունքներում ստացված տվյալների հավաստիության գնահատման համար օգտագործվել է R Project for Statistical Computing version R 3.1.0 (The R foundation of statistical computing, Վիեննա, Ավստրիա) ծրագիրը: Արդյունքները համարվում են հավաստի, երբ $p < 0.05$, եթե այլ արժեք հաջորդիվ բերված չէ: Բակտերիաների աճման տեսակարար արագության, թաղանթային բշտիկների ԱԵՖ-ազային ակտիվության տվյալները ներկայացված են առնվազն 3 անկախ փորձերի միջին արժեքներով:

Կորերը կառուցվել են Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Ռեդմոնդ, Վաշինգտոն, ԱՄՆ) և SigmaPlot 10.0 (Systat Software Inc, Սան Խոսե, Կալիֆոռնիա, ԱՄՆ) համակարգչային ծրագրերի միջոցով: SigmaPlot ծրագիրը օգտագործվել է որոշել ուստանդարտ սխալները ($< 5\%$):

ԳԼՈՒԽ 3. ՀԵՏԱԶՈՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ ԵՎ ԴՐԱՆՑ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄԸ

3.1. *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճման տեսակարար արագությունը և աճի ընթացքում pH-ի փոփոխությունները

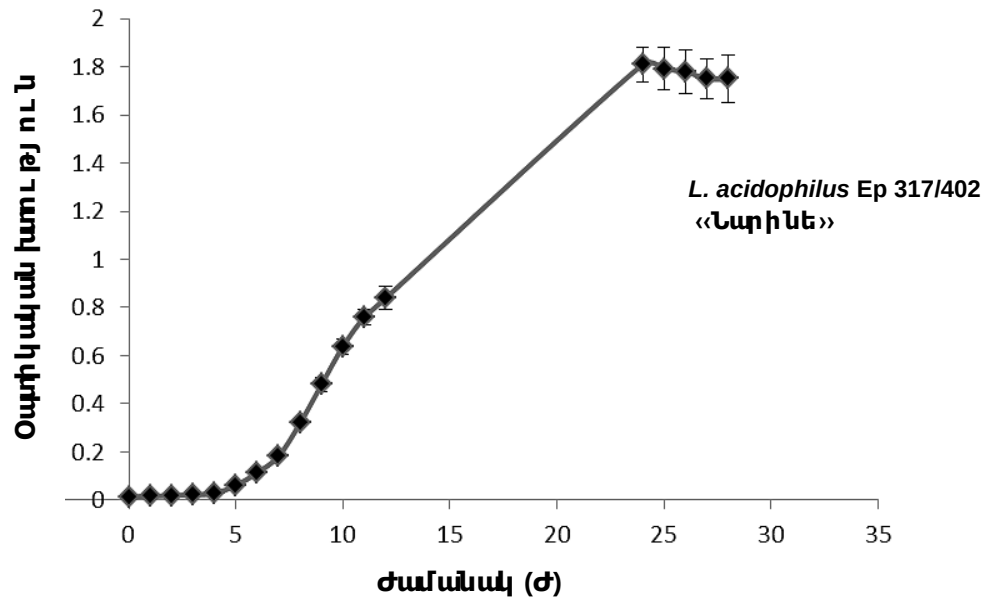
Աշխատանքի կատարման ժամանակ որպես առանցքային շտամ վերցվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» (Ерзинкян, 1964) շտամը և համեմատական ուսումնասիրություններ իրականացվել այլ ԿԹՔ շտամների հետ: ԿԹՔ աճի ընթացքում տեղի է ունենում բակտերիաների աճը բնութագրող չափորոշիչների՝ աճման միջավայրի օպտիկական խտության (ՕԽ) և pH-ի արժեքների փոփոխություն: ՕԽ չափումը իրականացվում է սպեկտրոֆոտոմետրով (ՕԽ 600 նմ): ԿԹՔ վրա հետազոտություններ կատարելիս առաջնային խնդիր է հանդիսացել ուսումնասիրել բջիջների աճման տեսակարար արագությունը:

L. acidophilus Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճի կինետիկան իրականացվել է ՄՌԾ սննդամիջավայրում: Խմորման ընթացքում աճի ուսումնասիրությունը կատարվել է ՕԽ և միավոր կենդանի բջիջների թվի հաշվարկով:

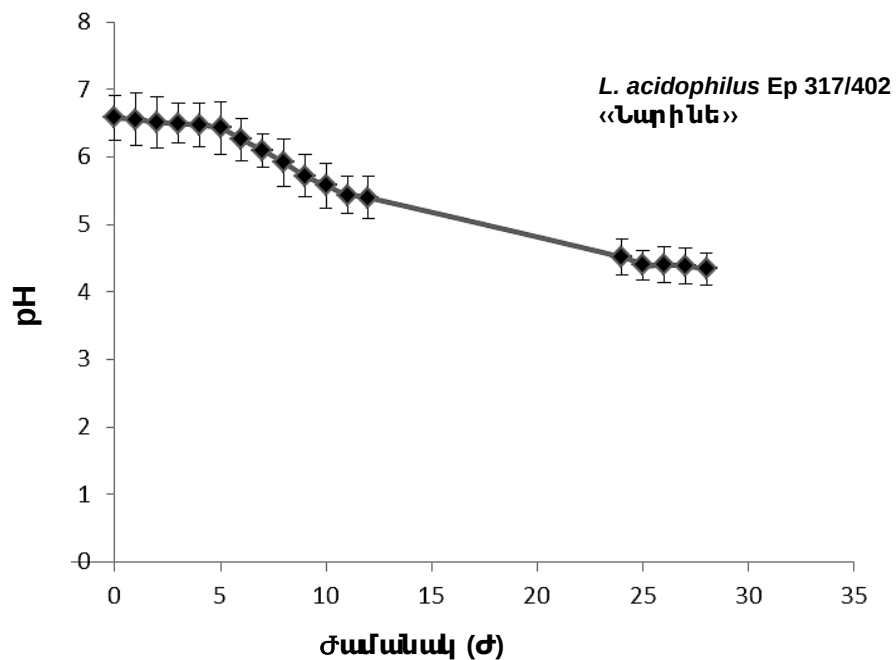
Ինչպես երևում է Նկ. 3.1.-ից (ա,բ) *L. acidophilus* շտամի մոտ ՕԽ աճման կորագիծը և pH-ի արժեքների փոփոխությունները ցուցաբերում են որոշակի օրինաչափություն՝ սկզբում աճման երկար Lag փուլից մինչև էքսպոնենցիալ կամ լոգարիթմական (լոգ) փուլի 11 ժամը, որտեղ ակնհայտորեն նկատվում է ՕԽ և կենսունակ բջիջների կտրուկ աճ: Այս փուլը բնութագրվում է բջիջների բաժանման հաստատուն առավելագույն արագությամբ: Կարճ Lag փուլը տևում է 4-4.5 ժամ, որին հաջորդում է էքսպոնենցիալ աճման փուլը մինչև 10-11 ժամ: Քանի որ էքսպոնենցիալ փուլում բջիջների բաժանման արագությունը համեմատաբար հաստատուն է, այս փուլը առավել հարմար է բջիջների բաժանման արագությունը որոշելու համար: Այս ժամանակ պարբերական բջիջները կրում են փոփոխություններ միջավայրի աստիճանական փոփոխության հետևանքով, սուբստրատի

կոնցենտրացիայի փոքրացման, բջջային սուսպենզիայի խտության մեծացման և նյութափոխանակության արգասիքների կուտակման հաշվին: Ստացիոնար փուլ ը բավականին կարճ է (Նկ. 3.1.)

ա)



բ)



Նկ. 3.1. *L. acidophilus*-ի աճի ընթացքում ա) ՕԽ և բ) pH-ի փոփոխությունները ժամանակից կախված: Բակտերիաներն աճեցվել

են ՄՌԾ սննդային միջավայրում, pH 6.5-ում, կուլտիվացման ջերմաստիճանը՝ $37\pm 2^{\circ}\text{C}$:

Այս փուլում բջիջների թիվը դադարում է աճել և քանի որ աճի արագությունը կախված է սուբստրատի կոնցենտրացիայից, ապա կոնցենտրացիայի նվազման դեպքում, մինչև սուբստրատի լրիվ օգտագործումը, արագությունը սկսում է իջնել: Այդ պատճառով էքսպոնենցիալ փուլից անցումը ստացիոնար փուլ տեղի է ունենում աստիճանաբար:

Այսպիսով, կենսունակ բջիջների քանակությունը սկսում է նվազել 24-րդ ժամից սկսած, որին հաջորդում է մահացման փուլը:

Կատարված փորձերի արդյունքում ցույց է տրվել միջավայրի pH-ի իջեցում բջիջների աճման մահացման փուլին զուգընթաց, երբ աճեցման 24-28-րդ ժամում pH-ի ցուցանիշը տատանվում է 4.52-4.34: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի աճման տեսակարար արագությունը կազմել է 0.63 ± 0.01 ժամ⁻¹:

Աճի արագության նվազման պատճառ կարող են հանդիսանալ ոչ միայն ազոտական նյութերի և վիտամինների ոչ բավարար մատակարարումը, այլ նաև պոպուլյացիաների մեծ խտությունների, կամ նյութափոխանակության թունավոր արգասիքների կուտակումները (Nazni and Komathi, 2014): Այս բոլոր գործոնները առաջացնում են անցում դեպի ստացիոնար փուլ և այս փուլ հասած կենսազանգվածի քանակը անվանում են ելք (Штерель, 1987):

pH-ը հանդիսանում է ԿԹԲ աճը բնութագրող ցուցանիշ, որը կարևոր գործոն է հանդիսանում կաթի և կաթնամթերքների արդյունաբերության մեջ, քանի որ ինչպես ցույց տրվեց նաև մեր հետազոտություններում, բակտերիաների աճմանը զուգընթաց տեղի է ունենում միջավայրի pH-ի անկում, որն իր հերթին հանգեցնում է կաթնամթերքի օրգանոլեպտիկ հատկությունների փոփոխմանը: Այս ցուցանիշը կարևոր է նաև որպես պրոբիոտիկներ դրանց կիրառման համար, քանի որ, ինչպես բազմիցս նշվել է, պրոբիոտիկ շտամերին ներկայացվող հիմնական պահանջներից մեկը հանդիսանում է աղեստամոքսային ուղիով անցման ընթացքում բարձր ադիզիվայի ունակությունը և աղիների հիմնային pH-ում իրենց ակտիվության պահպանումը (Ljungh and Wadström, 2006):

3.2. Պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիան և հեմոլիտիկ

հատկությունները: Ադիեզիան միջավայրի pH 6.5 և pH 8-ում

Հաշվի առնելով, որ վարակային հիվանդությունների զարգացման առաջին փուլը հանդիսանում է իգանդ-ռեցեպտորային փոխազդեցությունը, որը պայմանավորված է միկրոօրգանիզմների ադիեզիայով մակրոօրգանիզմի զգայուն բջիջներին՝ որոշվել է ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունը Էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով (Աղ. 3.1.):

Հաստատված է, որ ադիեզիվության հակազեները դրական ազդեցությունացիայի ռեակցիայի մեջ են մտնում մարդու և տարբեր կենդանիների արյան Էրիթրոցիտների հետ, որոնք էլ հնարավորություն են տալիս դրանց բաժանել առանձին խմբերի (Հարությունյան և ուրիշն., 2015): Հետևաբար, ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության համար օգտագործել ենք տարբեր կենդանիների արյան կարմիր բջիջներ: Հեմագլյուտինացիան առնվազն մեկ Էրիթրոցիտի հետ վկայում է բակտերիաների ադիեզիայի հատկության մասին:

ԿԹԲ շտամներ	Էրիթրոցիտներ			Հեմոլիզ
	մարդ	կով	ոչ խար	
<i>L. acidophilus</i> Ep 307/412 «Նարինե»	+	+	+	-
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	+	+	+	-

Աղ. 3.1. ԿԹԲ ադիեզիան և հեմոլիտիկ հատկությունները աճեցման սովորական պայմաններում

<i>var. mazuni</i> «Կարի Նե»				
<i>L. jugurti</i> _{111n}	+	-	+	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	+	+	+	-
<i>S.lactis</i> 1304	+	+	+	-

(+) ադիեզիայի առկայություն

(-) ադիեզիայի բացակայություն

Ինչպես երևում է աղյուսակ 3.1.-ից՝ փորձարկված ԿԹՔ շտամների մեծամասնությունը ցուցաբերում են ադիեզիայի հատկություն: Հետազոտված շտամներից միայն *L. jugurti*_{111n} շտամի մոտ բացակայում է ադիեզիան կովի արյան կարմիր բջիջների դեպքում: Միաժամանակ բոլոր շտամների մոտ նկատվում է հեմոլիտիկ ակտիվության բացակայություն:

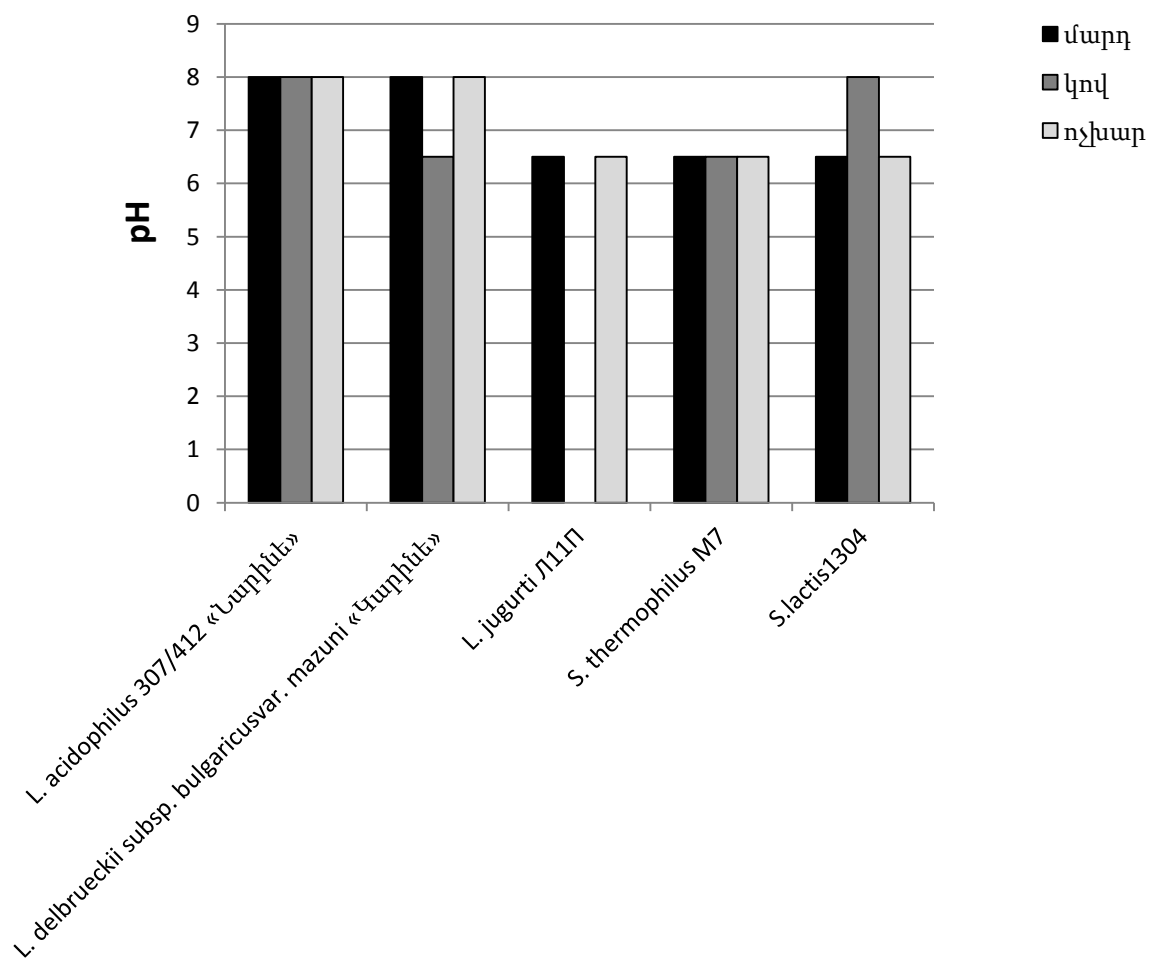
ԿԹՔ հայտնի են որպես կաթի մեջ լակտոզը յուրացնող, կաթնաթթուներ և վերամշակող բակտերիաներ, որոնք բացի կաթնամթերքների արտադրությունից օգտագործվում են նաև բժշկության և անասնաբուժության մեջ: Քանի որ կաթի pH-ը միջինում կազմում է 6.5-6.7 և տատանվում է 6.3-6.9, որը թույլ թթվային է, հետևաբար լայնամասշտաբ կիրառություն ունեցող ԿԹՔ ակտիվությունը առավելագույնը կդրսևորվի pH-ի այս արժեքի դեպքում: Նմանատիպ տվյալներ ստացվել են նաև մի շարք այլ հեղինակների կողմից (Mataragas et al., 2003), երբ *Lactobacillus curvatus* L442 և *Leuconostoc mesenteroides* L124-ի մոտ որպես աճման օպտիմալ pH նույնպես համարվել է 6.0-6.5: Ավելի ցածր՝ pH 4-ի պայմաններում բակտերիաների աճը կտրուկ նվազել է և բջիջների աճը կանգ է առել վաղ էքսպոնենցիալ փուլում: Այս փաստը ևս մեկ անգամ վկայում է այն մասին, որ ցածր pH-ի պայմաններում լակտոբակտերիաների աճման տոկոսը ցածր է:

Սակայն, որպես պրոբիոտիկ, ԿԹՔ շտամների կիրառման համար անհրաժեշտ է որպեսզի պահպանվի վերջիններիս մոտ ադիեզիայի հատկությունը նաև աղիների հիմնային պայմաններում: Այդ նպատակից ելնելով՝ թույլ թթվային և հիմնային pH-ի պայմաններում ԿԹՔ աճի, զարգացման և ադիեզիայի հատկության դրսևորման ուղղությամբ կատարվել է համեմատական ուսումնասիրություն (Նկ. 3.2.): Այսպիսով, հետազոտությունների

Ժամանակ միջավայրի pH-ը ընտրվել է ելնելով ֆիզիոլոգիական պայմաններում աղիների pH-ից (pH 8) և լակտոբակտերիաների աճման համար օպտիմալ pH արժեքից (pH 6.5):

Ինչպես երևում է Նկ. 3.2.-ից միջավայրի թույլ թթվային և հիմնային pH-ի պայմաններում աճեցված շտամների ադիեզիայի հատկության դրսևորման մեջ կան էական տարբերություններ:

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-ի և *L. Jugurti*₁₁₁-ի մոտ ադիեզիայի հատկությունը ամբողջովին ճնշվում է հիմնային pH-ի պայմաններում: Ադիեզիայի հատկությունը ճնշվում է նաև *S. lactis* 1304 շտամի մոտ:



Նկ. 3.2. ԿԹԲ ադիեզիայի հատկություն կախվածությունը միջավայրի pH-ից: Բակտերիաները աճեցվել են pH 6.5 և 8-ում, 37°C ջերմաստիճանում:

Կարելի է ենթադրել, որ հիմնային միջավայրը թողնում է որոշակի ազդեցություն կամ բակտերիաների մակերեսային, կամ էրիթրոցիտների մակերեսային ակտիվ մոլեկուլների վրա, ինչի հետևանքով նրանց ադիեզիայի հատկությունը թուլանում է: Սակայն կան շտամներ, որոնք կարելի է օգտագործել որպես պրոբիոտիկներ, քանի որ հիմնային pH-ի պայմաններում նրանց պահպանողունակությունը ցայտուն արտահայտված է: Այս հանգամանքը հատկապես նշանակալի է կաթնամթերքների տեխնոլոգիայում հետազոտվող շտամների կիրառության համար:

Հայտնի է նաև, որ բակտերիաների մեծամասնությունը գտնվում են յուրահատուկ կազմավորված կենսաթաղանթների ձևով: Կենսաթաղանթի զարգացման առաջնային փուլը տեղի է ունենում միկրոօրգանիզմների մակերևույթին ամրանալու՝ ադիեզիայի ժամանակ: Ընդ որում բակտերիաները կազմում են այդ կենսաթաղանթի զանգվածի 5-35%-ը, մնացած մասը դա միջմանրէային կադապարն է: Կենսաթաղանթի բակտերիաները ավելի կայուն են անբարենպաստ գործոնների նկատմամբ (Watnick and Kolter, 2000):

Ներկայումս ապացուցված է մանրէային կենսաթաղանթների դերը այնպիսի տարածված հիվանդությունների առաջացման և զարգացման ընթացքում, ինչպիսիք հարուցվում են *S. aureus*-ի և այլ գրամ-դրական միկրոօրգանիզմների կողմից, միզատեսական ուղիների վարակներ՝ պայմանավորված *E. coli*-ով և այլն (Билалов и др., 2006):

3.3. ԿԹԲ հակաբակտերիալ ակտիվության ուսումնասիրումը

Բժշկության մեջ պրոբիոտիկների և պրեբիոտիկների արդյունավետ օգտագործման անհրաժեշտ պայման է հանդիսանում ԿԹԲ մոտ արտահայտված ադիեզիայի հատկության գուգորդումը

հակաբակտերիակա հատկությունների հետ: ԿԹԲ

հակաբակտերիակա հատկությունները ուսումնասիրվել են գրամ-դրական *S. aureus*, *B. subtilis*, *M. phlei* և գրամ-բացասական *S. typhimurium*, *S. paratyphi*, *Citrobacter sp.*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa*, *E. coli* թեստ-օրգանիզմների ածի ճնշման գոտիների (մմ) չափման շնորհիվ, pH 6.5-ում (Աղ. 3.2.):

Ինչպես երևում է աղյուսակ 3.2-ից ուսումնասիրված ԿԹԲ շտամներից առավել բարձր հակաբակտերիակա ակտիվություն ցուցաբերել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը՝ ճնշելով ինչպես գրամ-դրական, այնպես էլ գրամ-բացասական ախտածին միկրոօրգանիզմների աճը: Առավել լայն ճնշման գոտի գրանցվել է *B. subtilis* և *P. aeruginosa*-ի նկատմամբ (27մմ): Ի տարբերություն լակտոբացիլների՝ ստրեպտոկոկային շտամների մոտ նկատվել է համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիակա ակտիվություն նշված ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ: Փորձարկված շտամներից գրեթե բոլորը ցուցաբերել են համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիակա ազդեցություն *K. pneumonia*-ի նկատմամբ՝ առաջացնելով միջինում 17 ± 0.25 մմ տրամաչափով ածի ճնշման գոտի:

Աղ. 3.2. ԿԹԲ հակաբակտերիակա ակտիվությունը որոշ ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ

Թեստ-միկրո-օրգանիզմներ	<i>Lactobacillus</i>			<i>Streptococcus</i>	
	<i>acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե»	<i>jugurti</i> Պ111	<i>delbrueckii</i> subs. <i>bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»	<i>lactis</i> 1304	<i>thermophilus</i> M ₇
	ածի ճնշման գոտիներ, մմ				
<i>S. aureus</i>	25±1.5	23±1.4	19±1.0	18±0.6	16±0.7
<i>B. subtilis</i>	27±1.4	22±1.1	23±1.2	20±1.0	19±0.8
<i>M.phlei</i>	24±1.2	18±1.0	19±0.9	16±0.8	17±0.7
<i>S. paratyphi.</i>	26±1.3	19±1.0	26±1.3	17±0.6	15±0.6
<i>S. typhi.</i>	25±1.0	18±0.8	24±1.2	21±1.0	18±0.7
<i>Citrobacter sp.</i>	26±1.6	17±1.0	20±1.2	19±0.7	16±0.7
<i>K. pneumoniae</i>	23±1.2	17±0.9	17±0.8	15±0.5	14±0.6
<i>P.aeruginosa</i>	27±1.6	21±1.1	25±1.3	22±1.0	20±0.9

<i>E.coli</i>	26±1.3	20±1.2	20±1.2	17±0.9	16±0.7
---------------	--------	--------	--------	--------	--------

Նմանատիպարոյ ու նքներ գրանցվել են նաև Կալալու (Kalalou et al., 2004) աշխատանքներում, որտեղ նշվում են մի շարք ԿԹԲ, որոնք ցուցաբերել են անտագոնիստական հատկություններ հետևյալ ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ՝ *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *S. aureus*, *B. cereus* և աճի ճնշման գոտիները տատանվել են 14-28 մմ-ի սահմաններում: *Lactobacillus* ցեղի բազմաթիվ շտամներ արտադրելով ջրածնի պերօքսիդ, օրգանական թթուներ, բակտերիոցիններ ցուցաբերում են արտահայտված հակաբակտերիական ակտիվություն ախտածին և պայմանական ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ:

Չգալի քանակությամբ աշխատանքներ ուղղված են ԿԹԲ հակամանրէային ազդեցության ուսումնասիրմանը՝ կապված մարդու և կենդանիների աղեստամոքսային ուղու ախտածին միկրոօրգանիզմների ճնշման հետ: Սակայն, ինչպես նշվում է այլ հեղինակների կողմից, կան պրոբիոտիկներով ախտածին գործընթացների արդյունավետ բուժման դեպքեր, որոնք կապված չեն աղեստամոքսային ուղու հետ (Pradeepa et al., 2013):

3.3.1. Պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիվություն համեմատական գնահատականը

Պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաների և ԿԹԲ պրոբիոտիկ շտամների ադիեզիվության համեմատական գնահատականը իրականացվել է ՀՀ ԱՆ Ա. Բ. Ալեքսանյանի անվան համաճարակաբանության, վիրուսաբանության և բժշկական մակաբուժաբանության գիտահետազոտական ինստիտուտի հետ համատեղ:

Հայտնի է, որ մարդկանց մոտ *E.coli*-ի կողմից հարուցվող դիարեայի զարգացումը պայմանավորված է ադիեզիվության գաղութացնող գործոնների հակազեններով (CFA-colonization factors antigens), որոնք տեղակայված են բակտերիական բջիջների

ֆիմբրիաներում և կոչվում են ահեզիվության ֆիմբրիային հակաձիններ: Վերջիններս լինում են երկու տիպի՝ CFA I և CFA II: Այս գործոնները հնարավորություն են տալիս մանրէներին ադիեզվել ու մարդու աղիների էպիթելային բջիջների համապատասխան ռեցեպտորներին (Հարությունյան և ուրիշն., 2015):

Հաստատվել է նաև, որ հակաձինները դրական ազդյուն տնացիայի մեջ են մտնել մարդու և կենդանիների արյան կարմիր բջիջների հետև ըստմանոգայի ավելացման բաժանվում են առանձին խմբերի:

Մանրէի տեսակ	CFA	CFA I	CFA II
--------------	-----	-------	--------

Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների մոտ ախտանոթյան գաղութացնող գործոններ հայտնաբերվել են 52 դեպքում ($52.0 \pm 5.0\%$), որն առավելապես արտահայտված է *K. pneumonia* ($60.0 \pm 10.9\%$), *P. vulgaris* և *P. mirabilis* շտամներում ($55.0 \pm 11.1\%$): Ընդ որում, CFA I գործոնը հայտնաբերվել է 23 ($44.2 \pm 6.9\%$), իսկ CFA II գործոնը 29 դեպքում ($55.8 \pm 6.9\%$): ԿԹԲ մոտ ադիեզիվության CFA գործոնը հայտնաբերվել է յոթ դեպքերում ($35.0 \pm 10.7\%$), որից CFA I հինգում ($71.4 \pm 17.0\%$), իսկ CFA II –ը երկուսում ($28.6 \pm 17.0\%$) (Աղ. 3.3.):

Աղ. 3.3. Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաների ադիեզիվության ստուգման արդյունքները

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

Ստացված արդյունքները վկայում են այն մասին, որ ախտածնությամբ հատկությունները առավել արտահայտված են այն Էնտերոբակտերիաների մոտ, որոնց մոտ գերակշռում է ախտածնությամբ CFA II գործոնը, իսկ պրոբիոտիկ ԿԹԲ մոտ գերակշռում է CFA I գործոնը: Բազմաթիվ հեղինակների աշխատանքներ ցույց են տալիս, որ ադիեզիայի հատկությունը առավել արտահայտված է պայմանական ախտածին Էնտերոբակտերիաների մոտ (Stankowska, 2008; Арутюнян и др., 2014):

Վերլուծելով Աղ. 3.2 և 3.3-ը կարելի է ենթադրել, որ ԿԹԲ մեծամասնությամբ համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիկական ազդեցությունը *K. pneumoniae*-ի նկատմամբ պայմանավորված է վերջինիս մոտ գաղութացնող գործոնի բարձր տոկոսով:

Ուսումնասիրության արդյունքում պարզվել է նաև, որ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե», *L. delbrueckii subs.bulgaricus* var. *mazuni* «Կարինե» շտամները ունեն CFA I տիպի ադիեզիներ, *S. lactis* 1304՝ CFA II իսկ *L. jugurti*₁₁₁₀, *S. thermophilus* M7 շտամները՝ P տիպի ֆիմբրիաներ:

Այսպիսով, պրոբիոտիկների ստեղծման նպատակով առաջնահերթությունը տրվում է ադիեզիայի հատկությանը, քանի

որ համարվում է, որ ազդեցության արդյունավետությունը կայանում է հենց այդ հատկության մեջ:

Հաստ աղիների միկրոֆլորայի 90-95%-ը կազմում են անաէրոբները (բիֆիդում բակտերիաներ, լակտոբակտերիաներ, բակտերոիդներ) և միայն 5-10%-ը ֆակուլտատիվ անաէրոբ բակտերիաները (էնտերոբակտերիաներ, ստաֆիլոկոկեր և այլն): Սակայն, բազմաթիվ անբարենպաստ գործոնների ազդեցությամբ տեղի է ունենում բարձր հակաբակտերիական ակտիվությամբ օժտված օգտակար նորմոֆլորայի քանակական նվազում և պայմանական ախտածին մանրէների տարբեր տեսակների ավելացում, որը հանգեցնում է «դիսբիոզի»: Այդ պայմաններում ԿԹԲ պետք է ընդունակ լինեն պահպանվելու և բնակվելու հաստ աղու լորձաթաղանթում, որի նախապայմանը բարձր ադիզիայի հատկությունն է, և ինչի շնորհիվ էլ հնարավոր կլինի մրցակցել ախտածին միկրոֆլորայի հետ՝ ապահովելով աղիքային միկրոբիոտայի որակական և քանակական հավասարակշռությունը:

3.4. Պրոբիոտիկ ԿԹԲ կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ

Ուսումնասիրվել է *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var mazuni*, *L. jugurti*, *S. lactis* և *S. thermophilus* շտամների զգայունությունը 0.001-0.004% խտությամբ հակաբիոտիկների՝ լևոմիցետինի (քլորամֆենիկոլ), էրիթրոմիցինի (մակրոլիդ) և էնտերոֆոլիի (նիֆուրոքսազիդ) ազդեցությամբ (Աղ. 3.4.): Աղյուսակի տվյալներից երևում է, որ ԿԹԲ շտամներից մեծամասնության աճը ճնշվում է հակաբիոտիկների 0.003-0.004% խտությունների պայմաններում, սակայն *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանում է իր կենսունակությունը հակաբիոտիկների 0.004% խտության պայմաններում: Ի տարբերություն ձողածև շտամների, ստրեպտոկոկային շտամներից՝ *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M₇, ինչպես նաև լակտոբացիլներից՝ *L. jugurti*₁₁₁ գրեթե չեն աճում հակաբիոտիկների 0.002%-ից բարձր խտության պայմաններում:

ԿԹԲ շտամների մոտ նկատվել է արտահայտված զգայունություն բջիջների աճը ճնշող հակաբիոտիկների (Էրիթրոմիցին) նկատմամբ և ավելի բարձր կայունություն բջջապատի սինթեզը ճնշող նյութերի (քլորամֆենիկոլ, Էնտերոֆոլիլ) նկատմամբ: Նման եզրակացության եկել ենք ոչ միայն մեր փորձերի արդյունքում, այլ նմանատիպ տվյալներ կան նաև գրականության մեջ (Rasel Barua et al, 2015; Klare et al., 2007): Տարբեր հակաբիոտիկների նկատմամբ (քլորամֆենիկոլի, Էրիթրոմիցինի, տետրացիկլինի, ամոքսիցիլինի և այլն) ԿԹԲ զգայունության մասին տվյալները բազմաթիվ են (Ahmed et al., 2012, Saeed RM et al., 2014):

Աղ. 3.4. Հակաբիոտիկների ազդեցությունը ուսումնասիրված ԿԹԲ աճի վրա

ԿԹԲ շտամներ	Հակաբիոտիկների խտությունները կաթում, %											
	Լևոմիցետին				Էրիթրոմիցին				Էնտերոֆոլիլ			
	0.001	0.002	0.003	0.004	0.001	0.002	0.003	0.004	0.001	0.002	0.003	0.004
<i>L. acidophilus</i> 317/402 «Նարինե»	+	+	+	±	+	+	+	±	+	+	+	+
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»	+	±	-	-	+	±	-	-	+	+	±	-
<i>L. Jugurti</i> 1111	+	+	-	-	+	-	-	-	+	±	-	-
<i>S. thermophilus</i> M7	+	+	±	-	+	±	-	-	+	±	-	-
<i>S. lactis</i> 1304	+	+	±	-	+	-	-	-	+	±	-	-

*(-) աճի բացակայություն

(+) աճի առկայություն

(±) թույլ արտահայտված աճ

Դը Այմոյի և աշխատակիցների (D'Aimmo et al., 2007), ինչպես նաև Ֆլորեզի (Flórez et al., 2005) գիտական խմբի կողմից հրապարակվել են տվյալներ, որտեղ նշվում են լակտոբակտերիաների զգայունության մասին քլորամֆենիկոլի, Էրիթրոմիցինի նկատմամբ, իսկ տետրացիկլինի նկատմամբ զգայունությունը գտնում են, որ պայմանավորված է շտամային առանձնահատկություններով:

Ներկայ ու մս հակաբիոտիկները լայն կիրառություն ունեն ոչ միայն բժշկության և անասնաբուժության, այլև սննդի արդյունաբերության մեջ:

Միաժամանակ, հակաբիոտիկների լայնամասշտաբ և հաճախ նաև անվերահսկելի նշանակությունները հիվանդությունների ատիպիկ ձևերի և տարբեր ախտաբանական վիճակների առաջացման պատճառ են հանդիսանում: Արդյունքում անհրաժեշտ է լինում բուժել ոչ միայն հիմնական հիվանդությունը, այլ դրա չափազանց ակտիվ բուժման հետևանքով առաջացած բարդությունները: Դրա վառ ապացույցն է աղիների դիսբիոզը, որը ըստ վերջին համաճարակաբանական հետազոտությունների ավելի հաճախ հանդիպում է այն մարդկանց մոտ, որոնք վաղ հասակում օգտագործել են մեծ քանակությամբ հակաբիոտիկներ (Vangay et al., 2015):

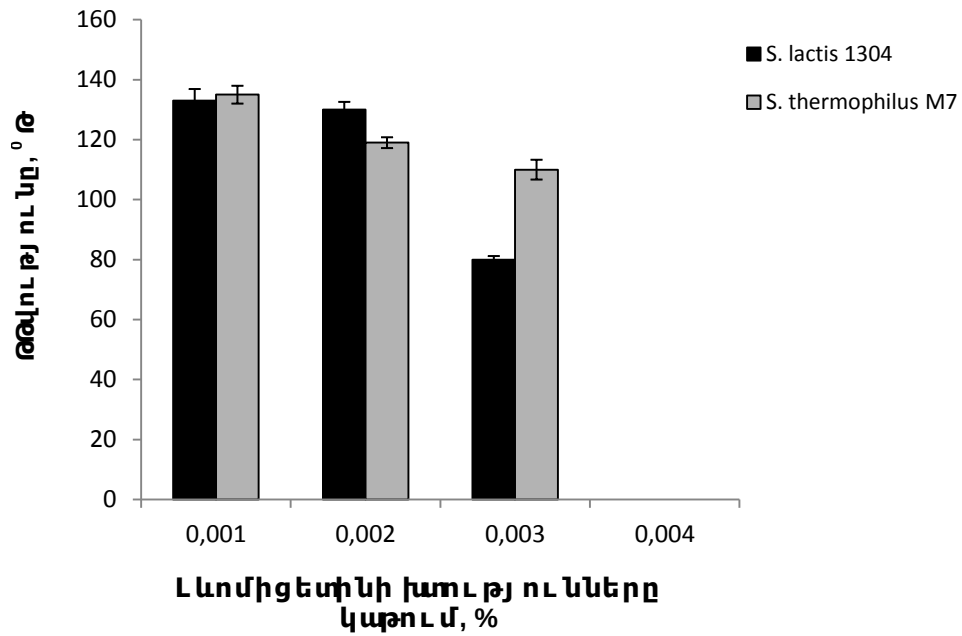
Փաստորեն, աղեստամոքսային հիվանդությունների ժամանակ միկրոբիոտայի կարգավորման համար լայնորեն կիրառվող հակամանրէային պատրաստուկները բացի ախտածին մանրէների վրա ազդելուց ճնշում են նաև միկրոբիոտայի կաթնաթթվային պրոբիոտիկ մանրէների կենսագործունեությունը:

Ելնելով վերոհիշյալից՝ անհրաժեշտ է ունենալ աղիների բնականոն կայուն միկրոբիոտա: Կարևոր է աղիների բնակեցումը բարձր ադիեզիայի հատկությամբ օժտված պրոբիոտիկ կաթնաթթվային և բիֆիդոբակտերիաներով:

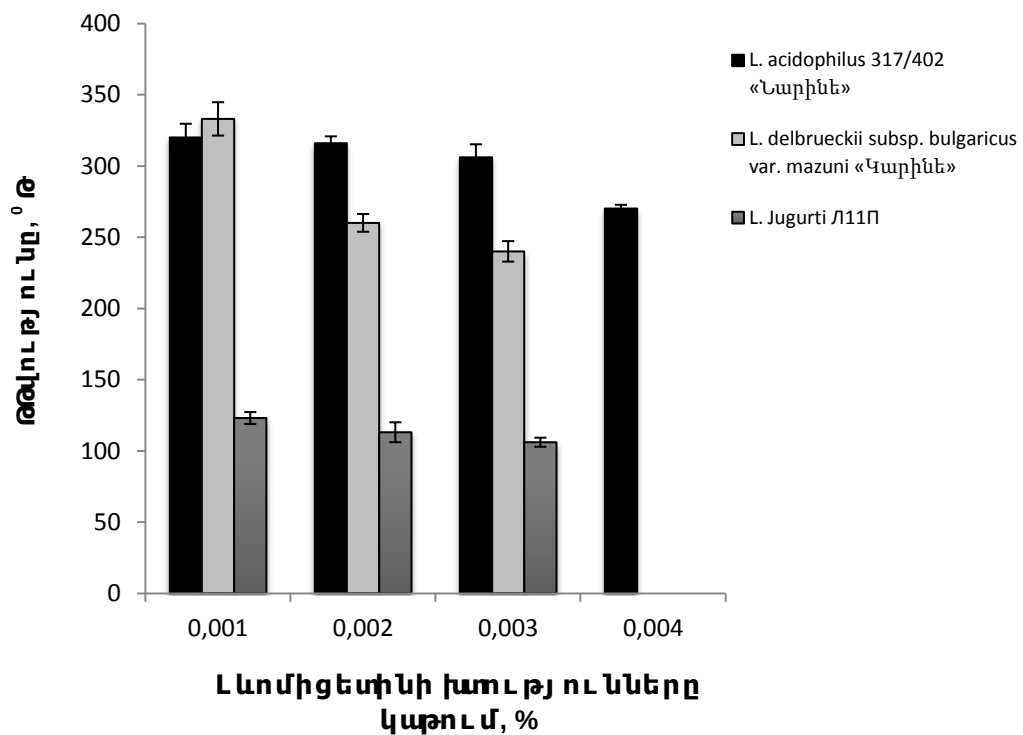
3.4.1. Հակաբիոտիկների ազդեցությունը ԿԹԲ թթվառաջացման հատկության վրա

Լևոմիցետինի, Էրիթրոմիցինի և Էնտերոֆոկոնիլի խտությունների բարձրացմանը զուգընթաց նվազում է ԿԹԲ թթվառաջացման ունակությունը (Նկ. 3.3. ա, բ):

ա)



բ)



Նկ. 3.3. (ա, բ) Լակտոբիցետի ազդեցությունը ԿԹԲ թթվառաջացման վրա: Թթվությունը որոշվել է ըստ թյուրների աստիճանի: Չափումները իրականացվել են ԿԹԲ կուլտիվացիայի 7-րդ օրը:

Օրինակ՝ *S. lactis* 1304 շտամը ստուգիչ կաթում առաջացրել է մինչև 136°Թ թթվություն (ըստ թյուրների), սակայն Լակտոբիցետի 0.003%-ի ժամանակ այն իջել է մինչև 80°Թ, Էրիթրոմիցինի 0.001%-ի ժամանակ

փոփոխություններ գրեթե չի գրանցվել, բայց էնտերոֆոնի 0.002%-ի դեպքում առաջացրել է 67°Թաստիճանի թթվություն:

Ացիդոֆիլային ԿԹԲ, ի տարբերություն ստրեպտոկոկային շտամների, ցուցաբերել են ավելի բարձր թթվակայունություն:

Այսպես, *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի մոտ և ոմիցե տիևի 0.001% խտության դեպքում թթվությունը եղել է 320°Թ և խտության բարձրացմանը զուգընթաց թթվությունը իջել է՝ հասնելով 290°Թ 0.004%-ի դեպքում: Համանման թվեր ստացվել են Էրիթրոմիցինի դեպքում, իսկ էնտերոֆոնի 0.004% կիրառման դեպքում այն կազմել է 220°Թ:

Համարվում է, որ թթվակայունությունը, ինչպես նաև թթվակայունության խթանումը հանդիսանում են կարևոր պայման բարձր կայունությամբ և արտահայտված ադիեզիայի հատկությունով օժտված շտամների ընտրության համար, որոնք կարող են ծառայել որպես պրոբիոտիկներ (հատկապես ախտածին միկրոօրգանիզմների դեմ պայքարում):

Այս հանգամանքը կարևոր է նաև ադիեզիայի հատկության դրսևորման ժամանակ: Կոլադոն և մյուսները (Collado et al., 2006) ուսումնասիրելով ԿԹԲ-ի թթվազայուն և թթվակայուն շտամները՝ եկան այն եզրակացության, որ թթվակայուն տեսակները օժտված են մարդու աղիքային լորձաթաղանթին ադիեզվելու առավել բարձր հատկությամբ, քան թթվազայուն շտամները:

3.4.2. Հակաբիոտիկների ազդեցությունը ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության վրա

Ելնելով այն հանգամանքից, որ ացիդոֆիլային ԿԹԲ հանդիսանում են բնական միկրոբիոտայի կարևոր և օգտակար մանրէներ՝ ուսումնասիրել ենք լևոմիցետինի, Էրիթրոմիցինի, էնտերոֆոնի բարձր խտությունների պայմաններում դրանց ադիեզիայի հատկությունը: Հետազոտությունը իրականացվել է մարդու, կովի և ոչխարի արյան Էրիթրոցիտների վրա հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով (Նկ. 3.4. ա, բ, գ):

Մարդու արյան էրիթրոցիտների վրա իրականացված հետազոտությունների արդյունքում (Նկ. 3.4. ա) առանձացվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը, որը ցուցաբերում է ադիեզիայի հատկություն և ևնտերոֆորիլի $\leq 0.004\%$ խտությունների կիրառման պայմաններում: Թույլ արտահայտված ադիեզիայի հատկություն նկատվում է *L. Jugurti*₁₁₁ շտամում:

Կովերի արյան կարմիր բջիջներին ԿԹՔ ադիեզիան նույնպես արտահայտված է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամում (Նկ. 3.4. բ): *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը ցուցաբերում է արտահայտված ադիեզիայի հատկություն բոլոր երեք տեսակի հակաբիոտիկների 0.003% խտության առկայության պայմաններում: Ուշադրության է արժանի այն փաստը, որ *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M₇ շտամները, որոնք ըստ իրենց հատկությունների համարվում էին համեմատաբար թույլ շտամներ, այնուամենայնիվ պահպանում են իրենց ադիեզիայի հատկությունը:

Ոչխարների արյան կարմիր բջիջների հեմագլոտինացիայի ռեակցիայի արդյունքում ստացված արդյունքները մի փոքր տարբերվում են մարդու և խոշոր եղջերավոր կենդանու էրիթրոցիտների ադիեզիայի տվյալներից: Այս դեպքում պրոբիոտիկ ԿԹՔ փորձարկված շտամներից մեծամասնությունը ցուցաբերել են թույլ արտահայտված ադիեզիայի հատկություն:

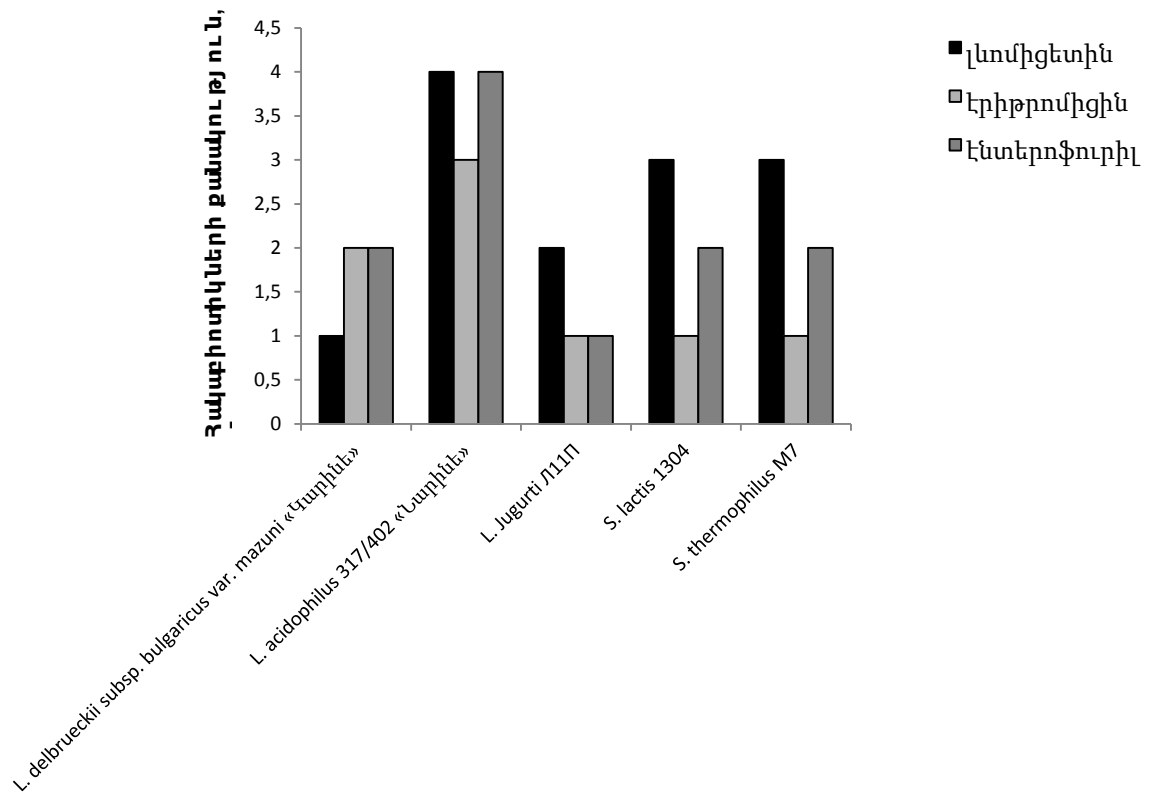
L. acidophilus Ep 317/402 «Նարինե» շտամը առաջացնում է մարդու և ոչխարի էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացիա նույնիսկ 0.004% -ի ժամանակ:

Ստացված տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ բակտերիաների աճի ու զարգացման ընթացքում կաթում առկա հակաբիոտիկները մանրէներում առաջացնում են կառուցվածքային և նյութափոխանակային փոփոխություններ:

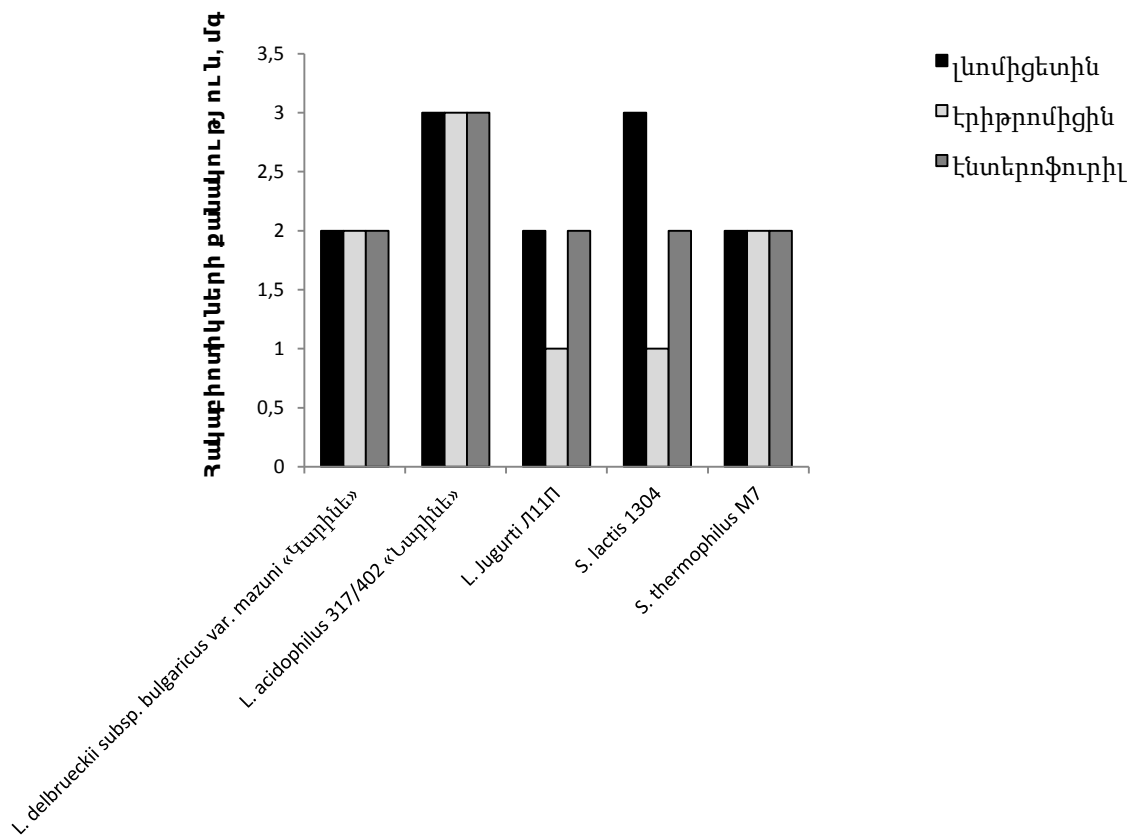
Այսպիսով, ադիեզիայի հատկությունը ճնշվում է հակաբիոտիկների բարձր խտության պայմաններում:

Կարելի է ենթադրել, որ որոշ հակաբիոտիկներ ազդում են լակտոբակտերիաների մակերևութային շերտերի (S-շերտեր) սպիտակուցների սինթեզի վրա, որոնք պատաս-

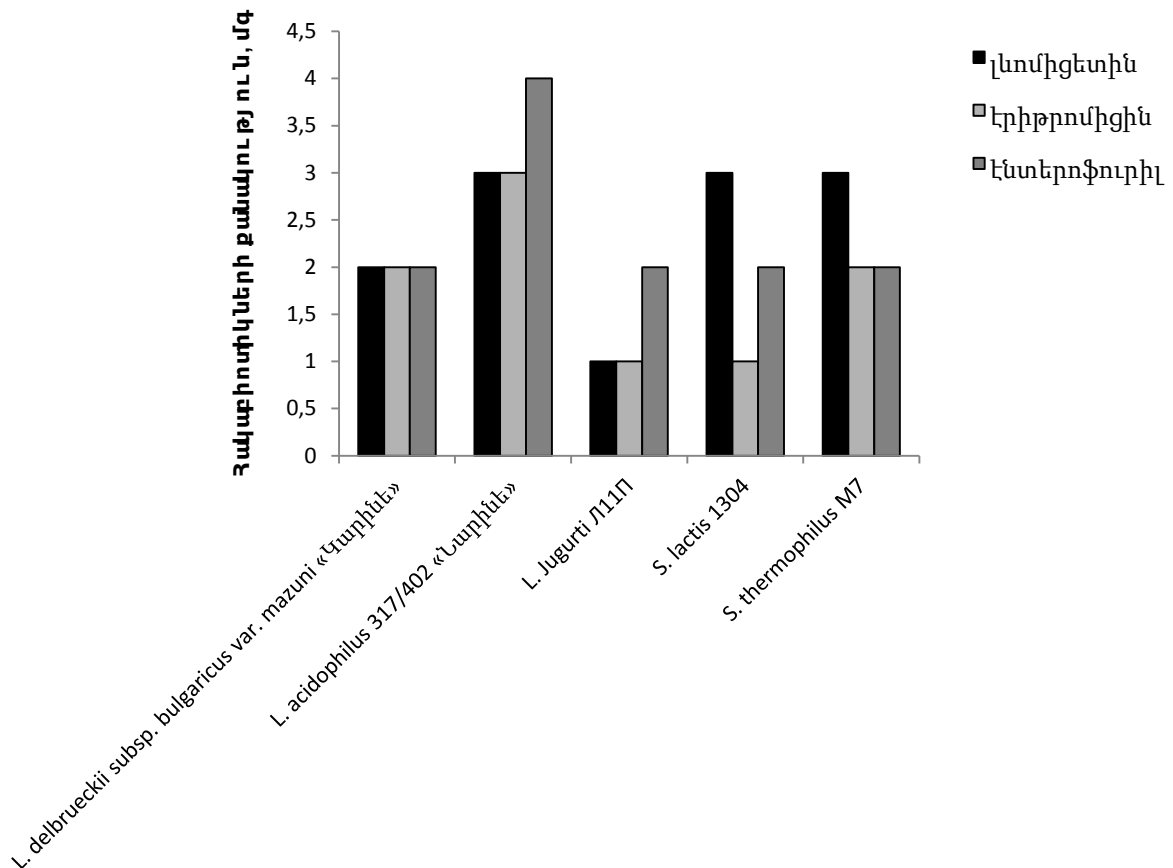
ա) մարդու արյուն՝



բ) կովի՝



գ) ոչ խարի՝



Նկ. 3.4. ա, բ, գ) ԿԹԲ ադիեզիայի հատկությունները տարբեր խտության Լակտոբիցետինի, Էրիթրոմիցինի, Էնտերոֆուրիլի ազդեցությամբ (խտություններ՝ 1 մգ 100 մլ-ում): Ուսումնասիրության համար օգտագործվել են երեք տեսակի արյուն՝ ա) մարդու, բ) խոշոր եղջերավոր կենդանու (կով), գ) մանր եղջերավոր կենդանու (ոչ խար), որոնցից պատրաստվել են Էրիթրոցիտների երեք տոկոսանոց կախույթ:

Խանառու են և մասնակցում են ադիբային Էպիթելային բջիջների, արտաբջջային մատրիքիսի (de Leeuw et al., 2006) և/կամ այլ բակտերիաների ԼԹԹ ադիեզիային (Antikainen et al., 2002):

Արդյունքում կարելի է առանձնացնել *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը, որը տարբեր խտության բոլոր երեք հակաբիոտիկների կիրառման պայմաններում ցուցաբերում է արտահայտված ադիեզիայի հատկություն, ինչը ադեստամոքսային ուղիով անցման ժամանակ նրա կենսունակության պահպանման համար հանդիսանում է կարևոր նախապայման:

Ստացվում է, որ ադիեզիայի հատկության թուլացումը ուղիղ համեմատական է հակաբիոտիկների քանակությանը կաթում: Բացի այդ, հակաբիոտիկների խտությունների աստիճանական բարձրացման գուցենթաց ԿԹՔ աճման արգելակումը թույլ է տալիս ենթադրել, որ տվյալ շտամը հավանաբար չի կրում հակաբիոտիկ-կայուն գեներ, որոնք կփոխանցվեին ախտածին միկրոօրգանիզմներին: Հետևաբար այն լիարժեք կարող է գտնել իր կիրառությունը որպես պրոբիոտիկ բժշկության մեջ, դեղագործության ոլորտում և կաթնամթերքների արտադրության ժամանակ:

3.5. Նիտրատների ազդեցությունը պրոբիոտիկ ԿԹՔ կենսունակության և ադիեզիայի հատկության դրսևորման վրա

Հայտնի է, որ նիտրատների 70-80%-ը ընդհանուր սննդակարգ է անցնում տարբեր բանջարեղեններից, իսկ մնացածը՝ այլ սննդամթերքներից (կաթնամթերքներ, մսամթերքներ, ջուր և այլն) (Jakszyn and Gonzalez, 2006):

Աշխատանքի սկզբում օգտագործվել է 500-600 մգ (0.5-0.6%) քանակությամբ NO_3^- : Այն ժամանակ, երբ ԿԹՔ շտամները ցուցաբերել են կայունություն այս խտության պայմաններում, շարունակվել է բարձրացվել չափաքանակը՝ հասցնելով այն մինչև 2000 մգ (2%): Ուսումնասիրելով նիտրատների ազդեցությունը ուսումնասիրված ԿԹՔ-ի աճի վրա՝ պարզվել է, որ բակտերիական շտամների մեծամասնության աճը ճնշվում է NO_3^- -ի բարձր խտությունների պայմաններում ($\leq 2\%$): Սակայն, *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանվում է այդ պայմաններում, մինչդեռ՝ *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M₇ չեն աճում միջավայրում, որտեղ NO_3^- -ի խտությունը $\leq 1\%$ (Աղ. 3.5.): Չնայած նիտրատների բարձր խտություններին՝ ԿԹՔ երբեմն մակարդում են կաթը, սակայն այդ մակարդները վերացանք կատարելուց հետո կաթը այլևս չեն մակարդում:

ԿԹՔ ադիեզիան ուսումնասիրվել է մարդու, ոչ խարի, կովի արյան վրա՝ հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով: Շտամների

կենսունակությունը պահպանվել է NO_3^- -ի ցածր խտությունների առկայության պայմաններում: Այն ժամանակ, երբ NaNO_3 և KNO_3 խտությունները եղել են 2-2.5%, շտամների մեծ մասը դադարել են աճել և արդյունքում ադիեզիայի ունակություն չեն ցուցաբերել (Նկ. 3.5.):

Աղ. 3.5. Լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկերի աճը տարբեր խտության NO_3^- -ի պայմաններում

ԿԹԲ տեսակներ, շտամներ	NO_3^- -ի խտությունները (%)							
	NaNO_3				KNO_3			
	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. Jugurti</i> ₁₁₁	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>S. lactis</i> 1304	+	+	-	-	+	-	-	-

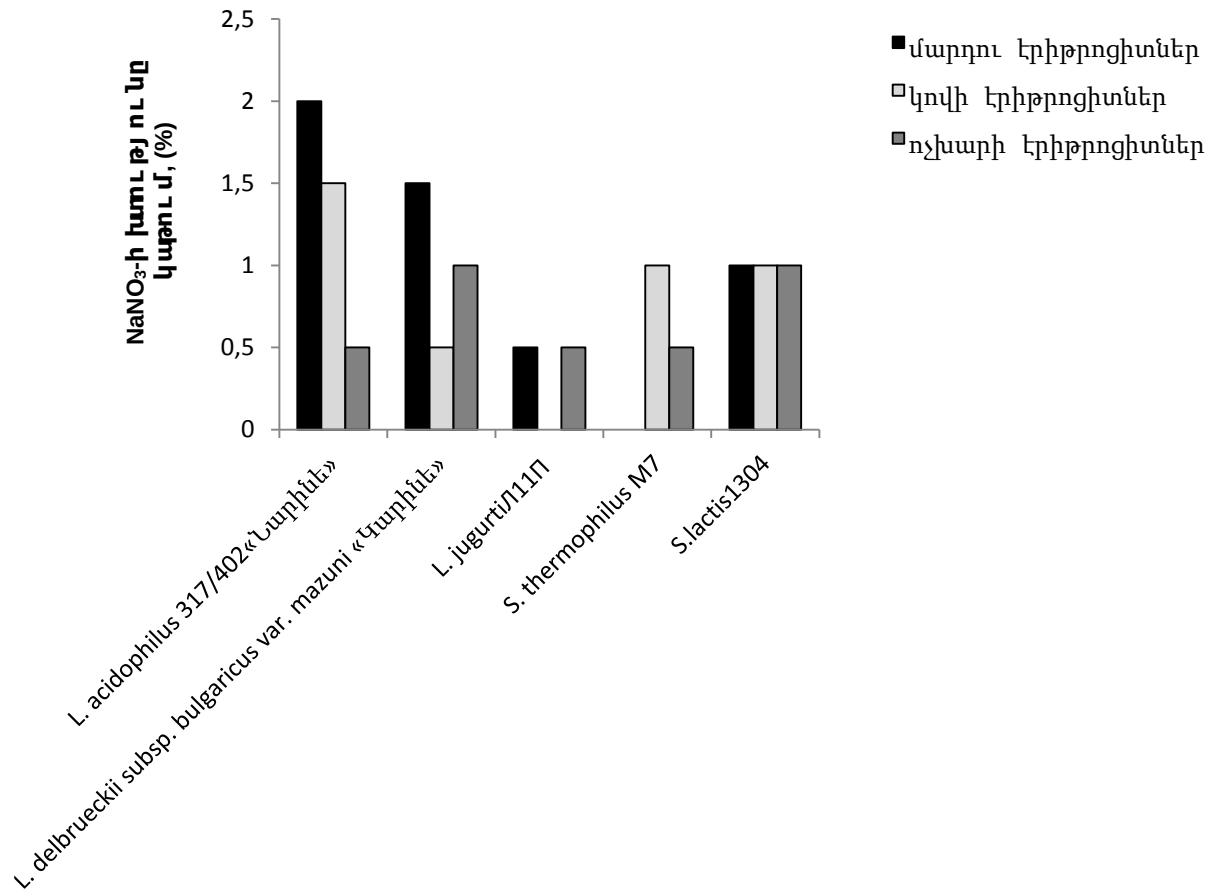
*(-) աճի բացակայություն

Հետաքրքրությունը կայանում է նրանում, որ ստրեպտոկոկային շտամների, մասնավորապես *S. lactis* 1304 և *S. thermophilus* M₇-ի մոտ չի նկատվել աճ NO_3^- -ի բարձր խտության պայմաններում, սակայն պահպանվել են դրանց ադիեզիայի հատկությունները (Նկ. 3.5):

Թել ֆորդի և համահեղինակների (Telford et al, 2006) կողմից նշվում է գրամ-դրական ստրեպտոկոկերի մասին, որոնց մոտ պիլինների առկայությունը, որոնք ձևավորվել են ադիեզիվ պիլինների ենթամիավորների կովալենտ պոլիմերիզացիման արդյունքում, ապահովում են բակտերիաների ադիեզիան տիրոջ բջիջներին:

Ուսումնասիրված՝ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» և *L. delbrueckii subs. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամները, նիտրատ պարունակող կաթում աճելիս ցուցաբերում են արտահայտված հեմագլյուտինացիա մարդու Էրիթրոցիտների հետ՝ համեմատած կովի և ոչ խարի Էրիթրոցիտների (Նկ. 3.5.): Միայն *S. thermophilus* M₇-ում չի նկատվել որևիցե ռեակցիա մարդու Էրիթրոցիտների հետ փոխազդեցության ժամանակ:

Պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության նվազումը ուղիղ համեմատական է NO_3^- -ի խտությանը: 2% (մոտավորապես 4 անգամ ավելի) խտության հասնելիս ընկնում է ադիեզիայի ունակությունը (Նկ. 3.5.): Իսկ NO_3^- -ի 2% խտության պայմաններում կովի և ոչխարի էրիթրոցիտների հետընդհանրապես բացակայում է ադիեզիան:



Նկ. 3.5. ԿԹԲ շտամների ադիեզիայի հատկությունը տարբեր խտության NO_3^- -ի կիրառման պայմաններում հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի միջոցով՝ մարդու, կովի և ոչխարի արյան կարմիր բջիջների օգտագործմամբ:

Այսպիսով ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ Նիտրատների բարձր խտությունները՝ $\leq 2\%$ ճնշում են երկու տեսակի ԿԹԲ՝ լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկների աճը, սակայն համեմատած ստրեպտոկոկների լակտոբացիլները ցուցաբերում են ավելի բարձր դիմացկունություն և ադիեզիայի հատկություն:

Որոշ հեղինակների կողմից նշվում է այն փաստը, որ NO_3^- կամ NO_2^- թունավորման ժամանակ ոչխարների արյան մեջ նվազում է հեմոգլոբինի և ընդհակառակը բարձրանում է մեթեմոգլոբինի քանակությունը (Hairullin and Zhestkov, 2011):

Նիտրատների ընկճող ազդեցությունը կարող է պայմանավորված լինել բակտերիաների աճի ընթացքում NO_3^- -ի փոխակերպմամբ NO_2^- -ի, որն այնուհետև վերածվում է նիտրոսոնիումիոնի՝ ձևավորելով նիտրազամիններ (Larsson et al., 2006; Telford et al., 2006; Liu Ch & Russell, 2008): Վերոհիշյալ նյութերը՝ նույնիսկ ցածր քանակությամբ, կարող են հանգեցնել բակտերիաների կառուցվածքային և նյութափոխանակային խանգարումների, որի արդյունքում ԿԹԲ կորցնում են իրենց կենսունակությունը:

3.5.1. Նիտրատների ազդեցությամբ ԿԹԲ թթվառաջացման ակտիվության գնահատումը

Սննդամթերքների և կերերի պահպանման մեջ կիրառվող պրոբիոտիկ ԿԹԲ հիմնական սկզբունքը կայանում է աղեստամոքսային ուղիով անցման ժամանակ նրանց կենսունակ մնալ ու ընդունակությունը, էպիթելային բջիջներին ադիեզվել ու ու գաղութացվել ու հատկությունը և կաթնաթթվի արտադրությունը՝ ախտածին միկրոօրգանիզմների դեմ պայքարել ու համար:

ԿԹԲ թթվառաջացման ակտիվությունը NO_3^- -ի (0.5–2.0%) տարբեր խտությունների ժամանակ որոշվել է աճման 7-րդ օրում (Աղ. 3.6. ա, բ):

L. acidophilus Ep 317/402 «Նարինե» շտամի դեպքում 340°Թ (ստուգիչ) թթվությունը NaNO_3 և KNO_3 -ի դեպքում նվազել է համապատասխանաբար մինչև՝ 80°Թ 2 % և 62°Թ՝ 1.5% խտությունների պայմաններում:

Ի տարբերություն լակտոբակտերիաների ստրեպտոկոկերի մոտ նկատվել է ավելի ցածր թթվառաջացումը: *S. thermophilus* M7-ի մոտ NaNO_3 և KNO_3 -ի 1% խտության պարագայում՝ 64 ու 66°Թ համապատասխանաբար, իսկ *S. lactis* 1304-ի մոտ NaNO_3 -ի 1% դեպքում՝ 54°Թ թթվություն:

Ինչպես նշվել է բազմիցս, լակտոբակտերիաների աճին գուցենթաց նկատվում է միջավայրի pH-ի նվազում (Sunkata et al., 2014), որը յոթ օրվա ընթացքում կաթում օրգանական թթուների շարունակական քայքայման արդյունք է:

Աղ. 3.6. Տարբեր խտության ա) NaNO_3 և բ) KNO_3 ազդեցությունը ուսումնասիրված ԿԹ թթվառաջացման վրա

ա)

ԿԹ շտամներ	Ստուգիչ (առանց նիտրատի)	Թթվությունը ըստՑորների ասիճանի, °Թ			
		NaNO ₃ -ի խտությունը կաթում, %			
		0.5	1	1.5	2.0
<i>L. acidophilus</i> 317/402 «Նարինե»	340±17.0	270±13.5	150±7.5	120±7.2	80±3.4
<i>L. delbrueckii subsp.</i> <i>bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»	290±14.5	165±9.9	66±3.3	58±2.9	-
<i>L. Jugurti</i> ₁₁₁	280±16.8	190±11.4	-	-	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	130±6.5	88±5.28	64±3.2	-	-
<i>S. lactis</i> 1304	120±7.2	72±3.6	54±2.7	-	-

*(-) աճի բացակայություն

բ)

ԿԹ շտամներ	ստուգիչ (առանց նիտրատի)	Թթվությունը ըստՑորների ասիճանի, °Թ			
		KNO ₃ -ի խտությունը կաթում, %			
		0.5	1	1.5	2.0
<i>L. acidophilus</i> 317/402 «Նարինե»	340±17.0	250±12.5	99±5.0	62±3.1	-
<i>L. delbrueckii subsp.</i> <i>bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»	290±14.5	147±8.82	68±3.4	-	-
<i>L. Jugurti</i> ₁₁₁	280±16.8	155±9.3	70±3.5	60±3.6	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	130±6.5	88±4.4	66±3.9	-	-
<i>S. lactis</i> 1304	120±7.2	95±5.7	-	-	-

*(-) աճի բացակայություն

Կաթնաթթվի առաջացմամբ միջավայրի pH-ը նվազում է, ինչի արդյունքում օրգանական թթուները (կամ ոչ մեծ ճարպաթթուները) անցնում են չդիսոցված վիճակի: Հենց այս չդիսոցված թթուներն էլ պայմանավորում են ԿԹԲ հիմնական հակաբակտերիական ակտիվությունը: Ցույց է տրվել, որ չդիսոցված ԿԾՃ պասիվ կերպով թափանցում են բակտերիաների թաղանթներով՝ նպաստելով ցիտոպլազմայում թույլ թթուների անիոնների կուտակմանը և ազդում տարբեր նյութափոխանակային գործընթացների վրա (Rick, 2003; Nes et al., 2012): Արդյունքում տեղի է ունենում բջիջների աճի արգելակում՝ ակտիվ տրանսպորտի ճնշման և թաղանթային պրոտեոցիալի խախտման հետևանքով: Այս ամենը ի վերջո հանգեցնում է միկրոօրգանիզմների մահվան:

Կաթի թթվային միացությունների բարձր խտությունը, ինչպես նաև սննդամիջավայրի աղքատացումը թողնում են ճնշող ազդեցություն բջիջների կենսունակության վրա: Աստիճանաբար բջիջների խտությունը նվազում է, իսկ բարձր խտությամբ արգելակիչ նյութերը ազդում են թթվագոյացման գործընթացի վրա (Աղ. 3.6. ա, բ):

Հայտնի է, որ թթվային միջավայրում աճող բջիջները սովորաբար ձեռք են բերում թթվի նկատմամբ դիմացկունություն՝ բջջում կուտակվող թթվային սթրեսի սպիտակուցների շնորհիվ: Սակարող է օգտակար լինել բակտերիաների առավելագույն կենսազանգվածի եկամտաբերության, արգելակիչ նյութերի ազդեցությամբ դիմացկունության և տարբեր pH-ի ազդեցությամբ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության համար, ինչը թույլ կտա դիտարկել ԿԹԲ հիման վրա ստացված մերանները որպես պրոբիոտիկներ՝ կաթնամթերքի արտադրության կամ բժշկության մեջ կիրառելու նպատակով:

Այսպիսով, աղիքային նորմալ միկրոֆլորա ունենալու համար անհրաժեշտ է օգտագործել ացիդոֆիլային բակտերիաներ, որոնք աղիքային համակարգում ճնշում են ախտածին էնտերոբակտերիաների զարգացումը, կանխում են դիսբիոզը և նիտրատային թունավորումները:

**3.5.2. Նիտրատների ազդեցությունը *L. acidophilus* Er 317/402
«Նարինե»-ի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային
ակտիվության վրա**

Պրոբիոտիկների վրա նիտրատների ազդեցության մեխանիզմները հասկանալու համար, որպես ուսումնասիրության թիրախ վերցրել ենք բազմաթիվ ենթամիավորներից կազմված, պրոտոն տեղափոխող F_0F_1 -ԱԵՖազը: Հայտնի է, որ F_0F_1 -ԱԵՖազը խիստ զգայուն է նիտրատիոնների նկատմամբ (Hsu et al., 1995):

Այսպիսով, ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության վրա նիտրատների ճնշող ազդեցության մեխանիզմը պարզաբանելու համար ուսումնասիրել ենք NO_3^- -ի (1, 1.5 և 2.0%) տարբեր խտությունների ազդեցությունը pH 6.5-ում աճեցրած *L. acidophilus* Er 317/402 «Նարինե» ադիեզիային բակտերիայի թաղանթային բշտիկների ԴՑԿԴ նկատմամբ զգայուն ԱԵՖ-ազային վրա: NaNO_3 -ի 1.0-2.0% խտությունները ավելացվել են փորձարարական լուծույթներին: Նախքան ԱԵՖ-ազային ռեակցիան սկսվելը՝ թաղանթային բշտիկները մշակվել են NO_3^- -ով և ԴՑԿԴ-ով:

Հետազոտության արդյունքում պարզվել է, որ *L. acidophilus*-ի թաղանթային բշտիկների ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը ճնշվում է տարբեր խտության (1%, 1.5% և 2.0%) NaNO_3 -ի պայմաններում համեմատած ստուգիչի հետ (առանց NO_3^- և ԴՑԿԴ), և այդ արգելակումը առավել արտահայտիչ է ԴՑԿԴ (0.1 մՄ) առկայությամբ (Աղ. 3.7.):

NO_3^- -ի խտության աստիճանական բարձրացումը, առավել ևս զուգակցումը ԴՑԿԴ-ի հետ ուղեկցվում է ԱԵՖ-ազային ակտիվության ճնշմամբ:

Հետաքրքիր է այն փաստը, որ NaNO_3 -ի համեմատաբար ցածր խտությունների (1-1.5%) դեպքում, pH 6.5-ում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն ավելի ուժեղ է ճնշվում՝ համեմատած բարձր խտությանը (2%): Նմանատիպ տվյալներ ստացվել են նաև KNO_3 -ի դեպքում (Harutyunyan et al., 2015): Հավանաբար սա պայմանավորված է

պաշտպանական մեխանիզմների հետ, որոնք ակտիվանում են NO_3^- -ի բարձր խտությունների ժամանակ: Ստացվում է, որ F_0F_1 -ԱԵՖ-ը կարող է հանդիսանալ թիրախ նիտրատի իոնների համար (KNO_3 , NaNO_3) նույնիսկ նրանց ցածր խտությունների կիրառման պայմաններում:

Այսպիսով, կարելի է ենթադրել, որ այդ ժամանակ F_0F_1 -ի կառուցվածքում առաջանում են տարածական փոփոխություններ՝ ճնշելով ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը:

Աճման պարամետրեր	Օպտիկական խտություն (O.D.)/1 բուպե•	ԴՑԿԴ-զգայուն ԱԵՖ- ազային ակտիվություն* (մկՄ Ֆանոթոգ/բ/մկգ սպիտակուց)	Աղ. 3.7 NO ⁻³ ի տա րբ եր խտ ու թյ ու նն եր ի, ին չպ ես նա և
Ստուգիչ - NaNO_3 - ԴՑԿԴ	0.0087 ± 0.0004	182.2 ± 9.2	

ԴՑԿԴ-ի զուգակցված ազդեցությունը *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» ացիդոֆիլային բակտերիայի թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖ-ազային ակտիվությունն վրա:

NaNO ₃ 1%	0.0044±0.0003	92.17±5.4
NaNO ₃ 1% + ԴՅԿԴ	0.00085±0.0003	17.85±1.1
NaNO ₃ 1.5%	0.003±0.0001	63±3.8
NaNO ₃ 1.5% + ԴՅԿԴ	0.0015±0.0001	15.6±0.8
NaNO ₃ 2%	0.0035±0.0002	73.32±4.0
NaNO ₃ 2% + ԴՅԿԴ	0.0009±0.00005	20±1.2
-NaNO ₃ +ԴՅԿԴ	0.00086±0.00005	18.85±1.1

• 1 բույսն ու մ ՕԽ փոփոխությունն հաշվարկային արժեքները

* ԴՅԿԴ-զգայուն և ԱԵՖ-ազային ակտիվությունը որոշվել է ԴՅԿԴ-ով մշակված և առանց ԴՅԿԴ-ի նմուշների տարբերությամբ

3.6. Պահպանիչների ազդեցությունը ԿԹՔ զարգացման վրա

ԿԹՔ վրա պահպանիչների ազդեցությունն ուսումնասիրությունը ունի կարևոր գործնական նշանակություն: Այդ նպատակով մեր կողմից ուսումնասիրվել է տարբեր խտության (0.2-2.0%) սորբինաթթվի ազդեցությունը պրոբիոտիկ և ակտոբակտերիաների, ստրեպտոկոկերի աճի և զարգացման վրա (Աղ. 3.8.):

Ուսումնասիրությունները սկսվել են սորբինաթթվի ցածր խտությանների կիրառմամբ՝ հաշվի առնելով այն փաստը, որ սորբինաթթվի թույլատրելի քանակությունը սննդամթերքի մեջ կազմում է 0.05-0.2% (Bibek Ray, 2005), սակայն նկատելով ԿԹՔ բարձր կայունությունը՝ շարունակել ենք բարձրացնել այն մինչև ԿԹՔ շտամների կենսագործունեության լիովին ճնշումը:

Փորձերը իրականացվել են pH 6.5-ի պայմաններում՝ կաթի մեջ տարբեր խտության սորբինաթթվի ավելացմամբ: Ինչպես հայտնի է, սորբինաթթուն առավելագույն ընկճող, հակաբակտերիական

ազդեցությունը ցուցաբերում է չդիսոցված վիճակում և ցածր pH-ի պայմաններում: Վերջինս սահմանվել է pH 4.75: Չնայած սորբինաթթուները ակտիվ են ցածր pH-ի պայմաններում, սակայն դրսևորում են արդյունավետություն նաև ավելի բարձր՝ pH 6.5-ի պայմաններում:

Աղ. 3.8. ԿԹԲ դիմացկունությունը սորբինաթթվի (E200) տարբեր խտությունների առկայության պայմաններում

Կաթնաթթվային բակտերիաներ, շտամներ	Շտամների քանակը	Սորբինաթթվի քանակությունը կաթում, %														
		0.2	0.3	0.5	0.7	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0
<i>S. lactis</i> 1304	1	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L.jugurti</i> _{111n}	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> <i>subsp. bulgaricus</i> <i>var. mazuni</i> «Կարինե»	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>L.acidophilus</i> Ep 317/402 «Նարինե»	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ դիմացկուն

- ոչ դիմացկուն

Հայտնի է նաև, որ չդիսոցված սորբինաթթուն ևս օժտված է հակաբակտերիալ ակտիվությամբ, բայց այն 10-600 անգամ ավելի թույլ է՝ ի համեմատ չդիսոցված թթվի (Michael Davidson et al., 2005):

Հետազոտության արդյունքներից պարզվել է, որ սորբինաթթուն ազդում է ԿԹԲ մի շարք կենսաբանական հատկությունների վրա: Ինչքան բարձր է կաթի մեջ այս նյութի քանակությունը, այնքան խորն են ԿԹԲ կենսաբանական, օրգանոլեպտիկ, ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների փոփոխությունները (Sofos, 1992): Դրա ազդեցությամբ երկարում է կաթի մակարդման տևողությունը՝ 7-9 ժամից հասնելով մինչև 20-24 ժամի, ընկնում է կաթնաթթու սինթեզելու ակտիվությունը, ստրեպտոկոկերի մոտ 120⁰Թ-ից

թթվությունը իջնում է մինչև 65°C , իսկ Լակտոբացիլներինը՝ 340°C -ից մինչև 75°C թթվություն (Աղ. 3.9.):

Սորբինաթթվի նկատմամբ ԿԹՔ զգայունությունը տարբեր է: Կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերը Լրիվ ճնշվում են սորբինաթթվի 0.7-1.0%, իսկ ձողածև ԿԹՔ՝ 1.5-2.0%-ի պայմաններում (Աղ.3.8.):

3.6.1. Սորբինաթթվի ազդեցությունը արոբիոսիկ ԿԹՔ ադիեզիայի հանդեպ վրա

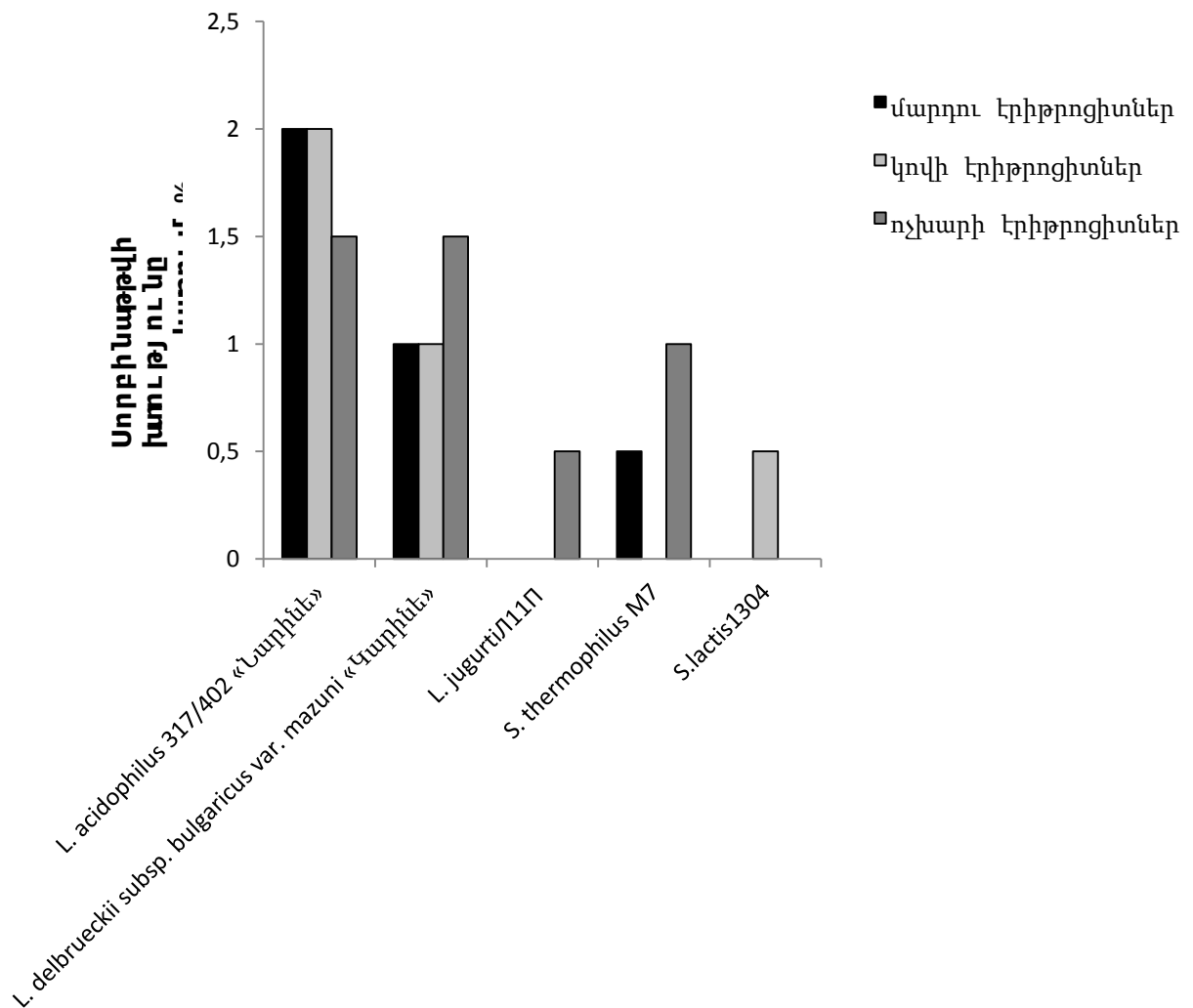
Տարբեր խտության (0.2-2.0%) սորբինաթթվի (E200) ազդեցությունը բակտերիաների ադիեզիայի վրա տարբերվում է կախված շտամների տեսակից (Նկ. 3.6.): Ի տարբերություն նիտրատների ազդեցությանը ԿԹՔ ադիեզիայի վրա, սորբինաթթուն թողնում է առավել արտահայտված ընկճող ազդեցություն:

Շտամների մեծ մասը բուրգովին չեն ցուցաբերում ադիեզիա նույնիսկ նվազագույն խտության պայմաններում: *L. jugurti*₁₁₁-ը մարդու և կովի արյան կարմիր բջիջների հեմագլյուտինացիայի ժամանակ ընդհանրապես չի ցուցաբերում ադիեզիա: Իսկ ոչ խարի արյան դեպքում ադիեզիան դրսևորվում է սորբինաթթվի 0.5% խտության պայմաններում (Նկ. 3.6.):

Ստրեպտոկոկային շտամներից՝ *S. thermophilus* M₇-ի վրա սորբինաթթվի ընկճող ազդեցությունը ավելի թույլ է արտահայտված՝ համեմատած *S.lactis* 1304-ի հետ:

Աղ. 3.9 Սորբինաթթվի տարբեր քանակների ազդեցությունը ԿԹԲ թթվառաջացման վրա: Որպես ստուգիչ ծառայել է կաթը՝ առանց սորբինաթթվի

Կաթնաթթվային բակտերիաներ, շտամներ	Ստուգիչ առանց սորբինաթթվի	Սորբինաթթվի քանակները կաթում, %											
		0.2-0.3	0.5	0.7	1.0	1.2	1.3	1.5	1.6	1.7	1.8	1.9	2.0
		Թթվությունը թյուրների աստիճաններով, °Թ											
<i>S. lactis</i> 1304	120±7.2	110±5.5	85±5.1	65±3.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. thermophilus</i> M ₇	130±6.5	105±6.3	98±4.9	85±5.1	65±3.9	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jugurti</i> 111П	290±14.5	280±16.8	220±13.2	140±8.4	120±7.2	100±6.0	90±4.5	80±4.8	-	-	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> var. <i>mazuni</i> «Կարինե»	285±17.1	260±13.0	250±12.5	175±10.5	160±9.6	150±7.5	140±8.4	135±8.1	127±7.7	90±4.5	80±4.8	-	-
<i>L. acidophilus</i> 317/402 «Նարինե»	340±17.0	320±19.2	300±18.0	290±17.4	250±15	220±11.0	200±11.0	185±11.1	168±8.4	160±9.0	150±9.0	100±6.0	75±4.5



Նկ.3.6. 0.5-2.0% խտությամբ սորբինաթթվի ազդեցությունը լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկների ադիեզիայի հատկության վրա: Ադիեզիան իրականացվել է մարդու, խոշոր եղջերավոր կենդանու (կով) և մանր եղջերավոր կենդանու (ոչխարի) արյան կարմիր բջիջների օգտագործմամբ: Որպես ստուգիչ եղել է ԿԹԲ ադիեզիան կաթում առանց սորբինաթթվի, որը նկարագրվել է Աղ. 3.1.-ում:

Լակտոբացիլներից՝ *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամը ցուցաբերում է դիմացկունություն և բարձր ադիեզիայի հատկություն սորբինաթթվի 1-1.5% խտությունների ժամանակ, իսկ առավելագույն՝ 2%-ի ժամանակ ադիեզիա ցուցաբերում է միայն *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը: Որոշ հետազոտություններում նույնպես մեկուսացվել են ԿԹԲ շտամներ՝ *Lactobacillus*

parafarraginis, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus paracollinoides*, որոնք քայքայում և քչացնում են կալիումական սորբատների քանակությունը (Montaño et al., 2013):

Պետք է նշել, որ սորբինաթթվի բարձր խտությունների ժամանակ ադիեզիա գրանցվում է մեծամասամբ ոչ խարների էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացիայի ռեակցիայի արդյունքում: Կարելի է ենթադրել, որ որքան յուրահատուկ է ադիեզիան շտամային տեսակից կախված, այնքան էլ՝ արյունից:

Հետազոտության արդյունքները ևս մեկ անգամ հաստատում են գրականության մեջ ավելի վաղ ի հայտ եկած տվյալները այն մասին, որ սորբինաթթվի $\leq 0.3\%$ օգտագործումը սննդի մեջ թողնում է բակտերիաստադիկ ազդեցություն, իսկ ավելի բարձր խտությունները՝ բակտերիոցիդ (Michael Davidson et al., 2005):

Սորբինաթթուների ազդման մեխանիզմները միկրոօրգանիզմների, սնկերի կամ բորբոսասնկերի վրա բազմաթիվ են: Գտնում են, որ այն կարող է ճնշել միկրոօրգանիզմների աճը և հանդիսանալ թաղանթային ակտիվ նյութերի կամ նյութափոխանակության յուրահատուկ արգելակիչ: Ենթադրվում է նաև, որ սպիտակուցների բնափոխումը կամ ուժեղ արտահայտված շրջապտույտը թույլ թթվային սթրեսի արդյունքն են՝ առաջացած բազմաթիվ սպիտակուցների էքսպրեսիայի արդյունքում, որոնք գործում են որպես մոլեկուլային շապերոններ (de Nobel et al., 2001):

Չնայած բոլոր ենթադրություններին՝ ակնհայտ է, որ սորբինաթթուն փոխում է ադիբային միկրոբիոտան՝ թուլացնելով պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիան Էպիթելային բջիջներին:

Ելնելով ստացված արդյունքներից առաջարկում ենք՝

- Չգերազանցել մրգահյութերի, տարբեր կաթնամթերքների (պանիրներ, մածուկ, կաթ, կաթնաշոռ, թթվասեր) արտադրության ժամանակ օգտագործվող պահպանիչների չափաքանակները:
- Բացառել երեխաների համար արտադրվող բոլոր մթերքներում պահպանիչների օգտագործումը:

- Մակնիշ եւ կաթնամթերքների վրա պահպանիչների օգտագործված քանակները՝ կանխելու նրանց բացասական ազդեցությունը մարդկանց, հատկապես երեխաների առողջության վրա:

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Բակտերիական կուլտուրաները հարյուրավոր տարիներ շարունակվում են օգտագործվել կաթնաթթվային խմորման վրա հիմնված արտադրությանն ենթարկում (պանիր, յոգուրդ, թթվասեր և այլն) և բազմիցս հաստատվել է նրանց կենսաապահպանման ներուժը և թերապևտիկ ազդեցությունը (Gupta and Sharma, 2015):

Պրոբիոտիկ օրգանիզմների կարևոր խումբը հանդիսանում են ԿԹԲ: Որպես ածխաջրերի խմորման արդյունք, այս բակտերիաները արտադրում են կաթնաթթու, որտեղից էլ ծագել է նման անվանումը: Կաթնաթթվային պրոբիոտիկները նպատակաուղղված են աղեստամոքսային ուղու վրա բարերար ազդեցություն թողնելու, իմունային համակարգը խթանելու և որոշ քաղցկեղների առաջացումը կանխարգելելու ուղղությամբ (Parvez et al., 2006): Սակայն մինչ բացահայտվում է պրոբիոտիկների բարերար ազդեցությունը, նրանց ազդեցության մեխանիզմները մեծամասամբ մնում են անհայտ: Այնուամենայնիվ, ուսումնասիրությունները վկայում են այն մասին, որ ուժեղ պրոբիոտիկները բնորոշվում են մարսողական ուղու «անբարենպաստ» պայմանները (լեղու աղեր, ցածր pH, մարսողական ֆերմենտներ) հաղթահարելու և աղիքային էպիթելիս ադիեզվելու ունակությամբ (Boyle et al., 2006; Kajfasz and Quivey, 2011): Հաշվի առնելով ԿԹԲ օգտակար հատկությունները և այն փաստը, որ դրանք հանդիսանում են մարդու նորմալ աղիքային միկրոբիոտայի կարևորագույն բաղկացուցիչներ՝ ուսումնասիրության հիմնական շեշտը դրվել է նրանց ադիեզիայի հատկության վրա: ԿԹԲ աղեստամոքսային ուղու լորձաթաղանթին ամրանալու ընդունակությունը նպաստում է աղիներում շտամի կենսունակությանը և օգնում է մրցակցային կերպով ճնշել հնարավոր ախտածին մանրէների զարգացումը (Kolida and Gibson, 2011):

Այսպիսով, պրոբիոտիկների ստեղծման ժամանակ բջիջներին ամրանալու հատկությունը հանդիսանում է ամենակարևոր գործոններից մեկը, քանի որ այլ ապես պրոբիոտիկ շտամները չեն լինի կենսունակ:

Սակայն ադիեզիայի բարձր հատկությամբ օժտված կաթնաթթվային պրոբիոտիկ բակտերիաներից բացի անհրաժեշտ է

ընտրել այնպիսի շտամներ, որոնք օժտված կլինեն արտահայտված կայունությամբ արտաքին, վնասակար նյութերի ազդեցության նկատմամբ: Այդպիսի նյութեր կարող են հանդիսանալ սննդի միջոցով օրգանիզմ ներթափանցած հակաբիոտիկները, նիտրատները, պահպանիչները: Կաթը կարող է պարունակել արգելակիչ տարբեր նյութեր՝ հակաբիոտիկներ, պեստիցիդներ, հերբիցիդներ և այլն, որոնք ազդում են ԿԹՔ աճի ու զարգացման վրա:

ԿԹՔ ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության համար որպես օբյեկտ վերցվել են էրիթրոցիտները: Պրոբիոտիկ բակտերիաների ադիեզիայի հատկությունը ուսումնասիրվել է տարբեր էպիթելային բջիջների վրա, ինչպիսիք են Caco-2 կամ Hela բջիջները (Dimitrov et. al., 2014; Ranadheera et al., 2014): Սակայն էրիթրոցիտների վրա կատարված հետազոտությունները գրականության մեջ սակավաթիվ են, այնուամենայնիվ ստացվել են նոր արդյունքներ և կարելի է ասել դրանում է կայանում կատարված աշխատանքի նորությունը և դժվարությունը: Առաջին անգամ ուսումնասիրվել է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը ընկճող նյութերի ազդեցությամբ՝ հեմագլյուտինացման ռեակցիայի շնորհիվ: Էրիթրոցիտները կիրառելիս հաշվի է առնվել այն փաստը, որ դրանց մակերեսին գտնվող գլիկոֆորին նյութը համանման է ադիբային էպիթելային բջիջների գլիկոկալիքսին, որոնց վրա դասավորված են բակտերիաների ադիեզիաների համար առկա ռեցեպտորները (Билалов и др., 2006):

Մեր հետազոտություններում ուսումնասիրվել են 5 տարբեր տեսակի ԿԹՔ շտամներ (լակտոբացիլներ և ստրեպտոկոկեր), որոնցից առանձնացվել է առավել արտահայտված հատկությունով օժտված *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը: Որոշվել է աճման տեսակարար արագությունը, աճի ընթացքում միջավայրի pH-ի փոփոխությունները: ԿԹՔ աճը, ուղղակիորեն բնորոշում է շտամի ներուժը պահպանվելու և զարգանալու ադիներում:

Հետազոտվել են լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկային շտամների ադիեզիայի հատկությունը, ադիեզիայի դրսևորման համար միջավայրի օպտիմալ pH-ի պայմանները: Ուսումնասիրվել է

տարբեր ընկճող նյութերի՝ հակաբիոտիկների, նիտրատների, պահպանիչների ազդեցությունը ադիեզիայի վրա, որոշվել է շտամների հեմոլիտիկ ակտիվությունը: Անցկացվել է պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ ԿԹԲ ադիեզիվության համեմատական գնահատումը, որոշվել են ադիեզիվների տեսակները: *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի վրա նիտրատների ազդման մեխանիզմների պարզաբանման նպատակով ուսումնասիրվել է թաղանթային բշտիկներում ԱԵՖազային ակտիվությունը: Նշվել են որոշակի առաջարկություններ կատարված փորձերի արդյունքում:

Բացահայտվել է որ ուսումնասիրված շտամները՝ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» (MDC-9602), *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» (MDC-9603), *L. jugurti*_{П11п} (MDC- 9606), *S. lactis* 1304 (MDC- 9607), *S. thermophilus* M₇ (MDC-9608) առաջացրել են հեմագլյուտինացիայի ռեակցիա մարդու և կենդանիների արյան կարմիր բջիջների հետ՝ ցուցաբերելով բարձր ադիեզիայի հատկություն: Հետազոտվող շտամներից ոչ մեկը չի ցուցաբերել հեմոլիտիկ ակտիվություն:

L. acidophilus Ep 317/402 «Նարինե» շտամի մոտ աճի տեսակարար արագության անկումը ուղեկցվել է միջավայրի pH-ի նվազմամբ, ինչը բացատրվում է քսարոնենցիալ փուլից ստացիոնար փուլ անցման ընթացքում բակտերիական բջիջների քայքայմամբ, ազոտական նյութերի, վիտամինների ոչ բավարար մատակարարմամբ, բջիջների պոպուլյացիաների մեծ խտությունների, կամ նյութափոխանակության թունավոր արգասիքների կուտակմամբ (Nazni et.al., 2014):

Մարդու, կովի և ոչխարի արյան կիրառմամբ ԿԹԲ ադիեզիայի հատկության ուսումնասիրության արդյունքում պարզվել է, որ ուսումնասիրված շտամները ցուցաբերում են արտահայտված ադիեզիայի հատկություն մարդու էրիթրոցիտների հետ: Կովի էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացիայի ռեակցիա չառաջացրեց միայն *L. jugurti*_{П11п} շտամը: Հասկանալու համար արդյոք ադիեզիվությունը պայմանավորված է շտամների սպեցիֆիկ ադիեզիվության գաղութացնող գործոններով (CFA)՝ ուսումնասիրվել են ԿԹԲ ադիեզիվները: Ուսումնասիրության արդյունքում պարզվել է, որ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե», *L.*

delbrueckii subs. *bulgaricus* var. *mazuni* «Կարինե» ունենւն CFA I տիպի ադիեզիսներ, *S. lactis* 1304-ը՝ CFA II, իսկ *L. jugurti*_{11n}, *S. thermophilus* M7 շտամներ՝ P տիպի ֆիմբրիաներ: Հետևաբար, նույն ցեղին պատկանող տարբեր շտամներ կրում են տարբեր տիպի ադիեզիսներ և բնականաբար ադիեզիվոլոյ ունը դառնում է խիստ շտամ-սպեցիֆիկ:

Կիրառական տեսանկյունից չափազանց կարևոր է ԿԹԲ հակաբակտերիական բարձր ակտիվոլոյ ունը պայմանական և ոչ պայմանական ախտածին միկրոօրգանիզմների նկատմամբ: Փորձարկված շտամներից *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե»-ի մոտ նկատվում է աճի ճնշման լայն գոտի *B. subtilis* և *P. aeruginosa*-ի նկատմամբ (27մմ) և համեմատաբար ցածր անտագոնիստական ակտիվոլոյ ուն *K. pneumonia*-ի նկատմամբ՝ առաջացնելով միջինում 17-23մմ տրամաչափով աճի ճնշման գոտի: Հետագայում որոշվեց պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների ադիեզիվոլոյ ան գործոնները և պարզ դարձավ, որ ԿԹԲ մեծամասնության համեմատաբար թույլ արտահայտված հակաբակտերիական ազդեցությունը *K. pneumonia*-ի նկատմամբ պայմանավորված է հենց վերջինիս մոտ ադիեզիվոլոյ ան գաղութացնող գործոնի բարձր տոկոսով:

Բնական հակաբակտերիական ակտիվոլոյ ունը ունի կարևոր նշանակություն, քանի որ, ինչպես հայտնի է, քիմիապես սինթեզված հակաբիոտիկների օգտագործումը բերում է դրանց նկատմամբ միկրոօրգանիզմների կայունության առաջացմանը (Levy and Marshall, 2004, Harutyunyan, 2015): Այդ կայունության տարածումը ներկայումս համարվում է առողջապահության ոլորտի կարևորագույն խնդիրներից մեկը: Միաժամանակ, հակաբիոտիկների և այլ դեղերի լայնամասշտաբ և հաճախ նաև անվերահսկելի նշանակումները հանդիսանում են պատճառ հիվանդությունների առիթի ձևերի և տարբեր ախտաբանական վիճակների առաջացման համար: Այդ իսկ պատճառով ուսումնասիրվել է երեք տարբեր տեսակի հակաբիոտիկների (լևոմիցետին, էրիթրոմիցին, էնտերոֆոլիլ) նկատմամբ ԿԹԲ կայունությունը և այդ նյութերի ազդեցությունը ադիեզիայի հատկության վրա:

Արդյունքում կարելի է առանձնացնել *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը, որը տարբեր խտության բուր երեք հակաբիոտիկների նկատմամբ ցուցաբերել է բարձր ադիեզիայի հատկություն, ինչը հանդիսանում է կարևոր նախապայման ադետամոքսային ուղիով անցման ժամանակ կենսունակության պահպանման համար: Բացի այդ, հակաբիոտիկների խտության աստիճանական բարձրացմանը զուգընթաց ԿԹԲ աճման արգելակումը թույլ է տալիս ենթադրել, որ տվյալ շտամը հավանաբար չի կրում հակաբիոտիկ-կայուն գեներ, որոնք կփոխանցվեին ախտածին միկրոօրգանիզմներին: Հետևաբար այն լիարժեք կարող է իր կիրառությունը գտնել որպես պրոբիոտիկ բժշկության մեջ, դեղագործության բնագավառներում և կաթնամթերքների արտադրության մեջ (Meng et al., 2014):

Նիտրատների տրանսֆորմացիայի հետևանքով առաջացած նիտրիտներն ու նիտրոգոամիններն ունեն քաղժկեղածին ազդեցություն (Gonzalez et al., 2006; Hammes. 2012): Հետևաբար մեր կողմից ուսումնասիրված շտամները, դիմակայելով բարձր խտության նիտրատներին և պահպանելով ադիեզիայի հատկությունը, հնարավորություն կտան մշակել միջոցներ՝ կանխելու կենսացենոզում նիտրատների տրանսֆորմացիան նիտրիտների և նիտրոգոամինների: NO_3^- -ի բարձր խտությունները ($\leq 2\%$) ճնշում են բակտերիական շտամներից մեծամասնությանը: Սակայն *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը պահպանվում է նման պայմաններում: 2% խտության հասնելիս ընկնում է ադիեզիայի հատկությունը, իսկ կովի և ոչխարի էրիթրոցիտների հետ ադիեզիան ընդհանրապես բացակայում է:

Ցույց է տրվել, որ նիտրատները ճնշում են *L. acidophilus*-ի թաղանթային բշտիկներում իրականացվող ԱԵՖ-ազային ռեակցիան: Հարկ է նշել նաև, որ NO_3^- ազդում է նաև ԱԵՖ-ազային ռեակցիայի ԴՑԿԴ զգայուն մասի վրա, ինչը վկայում է այն մասին, որ այս նյութի ազդման թիրախ է հանդիսանում H^+ իոններ տեղափոխող FoF_1 -ԱԵՖ-ազային համալիրը, քանի որ ԴՑԿԴ-ն հանդիսանում է վերջինիս մենահատուկ արգելակիչ: Ստացված տվյալներից կարելի է ենթադրել, որ FoF_1 -ԱԵՖ ազան կարող է հանդիսանալ թիրախ նիտրատ

իոնների համար նույնիսկ դրանց ցածր խտությունների առկայության պայմաններում:

Հաշվի առնելով, որ ներկայումս սննդարդյունաբերության հիմնական մարտահրավերներից է առավել անվտանգ սննդամթերքների ստացումը, որոնք կարողնակեն հնարավորինս քիչ քանակությամբ քիմիական պահպանիչներ, բայց միաժամանակ կունենան հնարավորինս երկար պահպանման ժամկետներ՝ ուսումնասիրելվել է սորբինաթթվի ազդեցությունը ԿԹՔ շտամների վրա: Պարզվել է, որ լակտոբակտերիաներից *L. delbrueckii subsp. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամը ցուցաբերում է կայունությոն և ադիեզիայի հատկություն քարձր խտության սորբինաթթվի առկայության պայմաններում, իսկ առավել ագույն՝ 2%-ի ժամանակ ադիեզիա ցուցաբերում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը, ինչը հնարավոր է դարձնում վերջինիս կիրառումը կենսատեխնոլոգիայում, բժշկության, անասնաբուժության և սննդի արդյունաբերության մեջ: Հետագայում աշխատանքները կշարունակվեն նաև ադիեզիայի քանակական տվյալների որոշման ուղղությամբ:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

Հիմք ընդունելով հետազոտության արդյունքները՝ կատարվել են հետևյալ եզրակացությունները.

1. ԿԹՔ՝ Լակտոբացիլների և ստրեպտոկոկային շտամների մեծամասնության մոտ ադիեզիայի հատկությունը ճնշվում է միջավայրի pH 8-ի պայմաններում, իսկ pH 6.5-ը սահմանվել է ադիեզիայի համար նպաստավոր պայման:
2. Ուսումնասիրված շտամներից արտահայտված հակաբակտերիական ակտիվությունն ցուցաբերում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը՝ ճնշելով ինչպես գրամ-դրական, այնպես էլ գրամ-բացասական ախտածին միկրոօրգանիզմների աճը և զարգացումը:
3. Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաներում գերակշռում է ադիեզիվության CFA II գործոնը, իսկ պրոբիոտիկ ԿԹՔ-ում՝ CFA I գործոնը: Հաստատվել է նաև, որ *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե», *L. delbrueckii subs. bulgaricus var. mazuni* «Կարինե» շտամները ունեն CFA I տիպի ադիեզիներ, *S. lactis* 1304-ը՝ CFA II, իսկ *L. jugurti*_{111n}, *S. thermophilus* M₇ շտամները ունեն P տիպի ֆիմբրիաներ:
4. *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամը ցուցաբերում է բարձր դիմացկունություն և արտահայտված ադիեզիայի հատկություն Լևոմիցետինի և էնտերոֆոնիլի $\leq 0.004\%$, իսկ Էրիթրոմիցինի՝ $\leq 0.003\%$ խտության ներքո: Առավել բարձր խտության ներքո դեպքում նկատվում է հակաբիոտիկի նկատմամբ զգայունության մեծացում:
5. Բարձր խտության նիտրատների ($\leq 2\%$) առկայության պայմաններում ճնշվում է և՛ Լակտոբացիլների, և՛ ստրեպտոկոկերի աճը, սակայն, համեմատած ստրեպտոկոկային շտամների, Լակտոբացիլները ցուցաբերում են բարձր դիմացկունություն և ադիեզիայի հատկություն մարդու, կովի և ոչ խարի Էրիթրոցիտների հեմագլյուտինացման ռեակցիայի արդյունքում: Այդ պայմաններում նվազում է *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի թաղանթային բշտիկներում պրոտոնային FoF₁-ԱէՏազային ակտիվությունը:

6. Կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի փորձարկված շտամները ամբողջովին ճնշվում են սորբինաթթվի 0.7-1% խտությունների ժամանակ՝ ցուցաբերելով թույլ արտադրված ադիեզիայի հատկություն, իսկ ակտոբացիլները՝ 1.5-2.0%-ի:
7. ԿԹԲ, հատկապես *L. acidophilus* Ep 317/402 «Նարինե» շտամի ադիեզիայի հատկությունը կարող է պայմանավորվել տարբեր գործոններով, նպաստել նրանց հակաբակտերիական ակտիվությանը և նիտրատների նկատմամբ կայունությանը՝ կարգավորելով ադեստամոքսային միկրոբիոտան:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Թռչունյան Ա., Բաղրամյան Կ., Փոլատյան Ա., Գաբրիելյան Լ.: Կենսաբանական թաղանթների կենսաֆիզիկա, կենսաէներգետիկա և կենսաքիմիա, ԵՊՀ հր., Երևան. - 2012. - 130 էջ:
2. Հարությունյան Ն.Մ., Լալայան Ա.Ա., Ալեքսանյան Յու. Թ., Մելիք-Անդրեասյան Գ.Գ., Հարությունյան Կ.Վ., Թռչունյան Ա.Ա.: Պայմանական ախտածին էնտերոբակտերիաների և պրոբիոտիկ կաթնաթթվային բակտերիաների ադիեզիվության համեմատական գնահատականը: Հայաստանի բժշկագիտություն, Երևան. - 2015. - 2:48-52:
3. Սուքիասյան Ա.Գ.: IL-1 β և IL-10 սինթեզի ինդուկցիայի և ռեգուլյացիայի ուսումնասիրությունը մարդու պերիֆերիկ արյան կոլլոիդացվող բջիջների միջոցով *Lactobacillus acidophilus* «Նարինե»-ի և այլ կենսաբանական ակտիվ նյութերի ազդեցությամբ: Սեղմագիր, Երևան. - 2011. - 26 էջ:
4. Арутюнян Н. М., Лалаян А.А., Мелик-Андреасян Г.Г. Диагностическая значимость факторов патогенности условно-патогенных энтеробактерий. Актуальные вопросы диагностической медицины. Сборник научных трудов, посвященных 30-летнему юбилею медицинского объединения “Диагностика”. Ереван. - 2014. - 33-38.
5. Билалов Ф.С., Габидуллин З.Г., Туйгунов М.М., Габидуллин Ю.З., Мамбетова Э.Ф., Ахтаријева А.А., Туйгунова В.Г. Некоторые факторы патогенности *E. coli*, выделенных от онкологических больных с инфекционными осложнениями. Известия Челябинского научного центра. - 2006. - 2:32.
6. Бредхин С.А., Космодемьянский Ю.В., Юрин В.Н. Технологии и техника переработки молока. Колос. М. - 2010. - 396 с.
7. Воробьёв А.А., Несвижский Ю.В., Богданова Е.А., Брюхова М.В. Адгезивные свойства лактобактерий и эшерихий в различных отделах желудочно-кишечного тракта человека в норме и патологии. Вест. Рос. Акад. Мед. Наук. - 2006. - 1:35-38.
8. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. М. Делипринт. - 2003. - 799 с.

9. Ерзинкян Л.А. (1964) Штамм бактерий *L. acidophilus* Ер 317/402. /А.С. СССР, N163573.
10. Ерзинкян Л.А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ереван. - 1971. - 210 с.
11. Каталог культур микроорганизмов. Ред. Африкян Э., Хачатурян А. Изд. "Гитутюн" НАН РА. Ереван. - 1996.- 236 с.
12. Королев С.А. Основы технической микробиологии молочного дела. Москва. - 1932. - 415 с.
13. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Динариева Т.Ю., и др. (ред.) Практикум по микробиологии. Академия, Москва. - 2005. - 608 с.
14. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., С.Н. Козлов. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. - 2002. -586 с.
15. Тамим А.И., Робинсон Р.К. Йогурты и другие кисломолочные продукты / Перевод с англ. под научн. ред. докт. техн. наук. проф. Л.А. Забодалевой. Санкт-Петербург. Изд.-во "Профессия". - 2003. - 664 с.
16. Шлегель Г. Общая микробиология, Москва Мир. - 1987. - с. 194-197.
17. Abbot E., Smith W., Siou G., Chiriboga C, Smith R., Wilson J., Hirst B., and Kehoe M.: Pili mediate specific adhesion of *Streptococcus pyogenes* to human tonsil and skin. Cell Microbiol. - 2007. - 9:1822–1833.
18. Ahmed A., Mohamed B., Yousif NME, Faye B., Loiseau G. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of LAB isolated from Sudanese traditional fermented camel (*Camelus dromedarius*) milk gariss. Inter J Biosci. - 2012. - 2:129-136.
19. Alagöz S., Türkyılmaz M., Tağı Ş., Özkan M. Effects of different sorbic acid and moisture levels on chemical and microbial qualities of sun-dried apricots during storage. Food Chem. - 2015. - 174:356-364.
20. Altermann E., Russell W., Azcarate-Peril M. et al. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. P Natl Acad Sci USA -2005. - 102:3906–3912.
21. Anderson R., Cookson A., McNabb W., Park Z., McCann M., Kelly W., Roy N. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. BMC Microbiol. - 2010. - 10:316.
22. Andrea Azcarate-Peril M., Altermann E., Hoover-Fitzula R., Cano Raul J. and Klaenhammer Todd R. Identification and Inactivation of Genetic Loci Involved with

Lactobacillus acidophilus Acid Tolerance. Appl Environ microbial. - 2004. - 70(9):5315–5322.

23. Annibale B., Capurso G., Delle Fave G. The stomach and iron deficiency anaemia: a forgotten link. Dig Liver Dis. - 2003. - 35:288–295.
24. Antikainen J., Anton L., Sillanpää J. and Korhonen T. Domains in the S-layer protein CbsA of *Lactobacillus crispatus* involved in adherence to collagens, laminin and lipoteichoic acids and in self-assembly. Mol Microbiol. - 2002. - 46:381-394.
25. Aquilanti L., Garofalo C., Osimani A., Silvestri G., Vignaroli C. and Clementi F. Isolation and molecular characterization of antibiotic-resistant lactic acid bacteria from poultry and swine meat products. J Food Protection. - 2007. - 70(3):557-565.
26. Aschebrook-Kilfoy B., Cross A., Stolzenberg-Solomon R., Schatzkin A., Hollenbeck A., Sinha R., Ward M. Pancreatic cancer and exposure to dietary nitrate and nitrite in the NIH-AARP Diet and Health Study. Am J Epidemiol. - 2011. - 174(3):305-15.
27. Aschebrook-Kilfoy B., Ward M., Gierach G., Schatzkin A., Hollenbeck A., Sinha R., Cross A. Epithelial ovarian cancer and exposure to dietary nitrate and nitrite in the NIH-AARP Diet and Health Study. Eur J Cancer Prev. - 2012. - 21(1):65-72.
28. Aschebrook-Kilfoy B., Shu X., Gao Y., Ji B., Yang G., Li H., Rothman N., Chow W., Zheng W., Ward M. Thyroid cancer risk and dietary nitrate and nitrite intake in the Shanghai women's health study. Int J Cancer. - 2013. - 132(4):897-904.
29. Avall-Jaaskelainen S., Palva A. *Lactobacillus* surface layers and their applications. FEMS Microbiol. - 2005. - Rev 29:511–529.
30. Avasilcăi L. and Cuciureanu R. Nitrates and nitrites in meat products – nitrosamines precursors. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. - 2011. - 115:606-611.
31. Azcarate-Peril M., McAuliffe O., Altermann E., Lick S., Russell M. and Klaenhammer T. Microarray analysis of a two-component regulatory system involved in acid resistance and proteolytic activity in *Lactobacillus acidophilus*. Appl Environ Microbiol. - 2005. - 71:5794-5804.
32. Azukas J., Costilow R., Sadoff H. Inhibition of alcoholic fermentation by sorbic acid. J Bacteriol. - 1961. - 81:189-194.
33. Bearson S., Bearson B. and Foster J. Acid stress responses in enterobacteria. FEMS Microbiol. Lett. - 1997. - 147:173–180.
34. Begley M, Hill C. and Gahan, C. Bile Salt Hydrolase Activity in Probiotics. Appl Environ Microbiol. - 2006. - 72(3):1729-1738.

35. Bermudez-Brito M., Plaza-Díaz J., Muñoz-Quezada S., Gómez-Llorente C., Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab.* - 2012. - 61:160–174.
36. Bibek Ray. *Fundamental Food Microbiology/Third edition.*, - 2005. - 625 p. <https://www.scribd.com/doc/52999892/Fundamental-Food-Microbiology>
37. Bingham SA, Pignatelli B, Pollock JR, Ellul A, Malaveille C, Gross G, Runswick S, Cummings JH, O'Neill IK. Does increased endogenous formation of N-nitroso compounds in the human colon explain the association between red meat and colon cancer. *Carcinogenesis.* - 1996. - 17:515–523.
38. Booth I. and Kroll R. The preservation of foods by low pH. In: Gould, G.W. (Ed.), *Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures*, Elsev., London - 1989. - pp. 119 - 160.
39. Bourdichon F., Casaregola S., Farrokh C. et al. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *Int J Food Microbiol.* - 2012 - 154:87-97.
40. Boyle R., Robins-Browne R., Tang M. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *The Americ. J Clinic. Nutrit.* - 2006. - 83(6):1256-1264.
41. Bryan N., Alexander D., Coughlin J., Milkowski A. and Boffeta P. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. *Food Chem Toxicol.* - 2012. - 50:3646-3665.
42. Buck B., Altermann E., Svingerud T. and Klaenhammer T. Functional analysis of putative adhesion factors in *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Appl Environ Microbiol.* - 2005. - 71:8344–8351.
43. Buddhiman T., Jyoti P., Ulrich S., Charles MAPF, Michael G., Wilhelm H. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from ethnic fermented bamboo tender shoots of North East India. *Int J Food Microbiol.* - 2008. - 121(1):35-40.
44. Budin-Verneuil A., Pichereau V., Auffray Y., Ehrlich D. S., and Maguin E. Proteomic characterization of the acid tolerance response in *Lactococcus lactis* MG1363. *Proteomics.* - 2005. - 5:4794-4807.
45. Bulajic S. and Mijacevic Z. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from sombor cheese. *Acta Veterinaria (Beograd).* - 2011. - 61(2-3):247-258.
46. Burks G. and Velegol S. "Macroscopic and nanoscale measurements of the adhesion of bacteria with varying outer layer surface composition." *Langmuir.* - 2003. - 19(6):2366-2371.

47. Cain A. and Karpa K. Clinical utility of probiotics in inflammatory bowel disease. *Altern Ther Health Med.* - 2011 - 17(1):72-79.
48. Candela M., Biagi E., Centanni M., Turrone S., Vici M., Musiani F., Vitali B., Bergmann S., Hammerschmidt S., Brigidi P. Bifidobacterial enolase, a cell surface receptor for human plasminogen involved in the interaction with the host. *Microbiol.* - 2009. - 155:3294–3303.
49. Candela M., Centanni M., Fiori J., Biagi E., Turrone S., Orrico C., Bergmann S., Hammerschmidt S., Brigidi P. DnaK from *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* is a surfaceexposed human plasminogen receptor upregulated in response to bile salts. *Microbiol.* - 2010. - 156:1609–1618.
50. Capaldi R., Aggeler R. Mechanism of the F(1)F(0)-type ATP synthase, a biological rotary motor. *Trends Biochem Sci.* - 2002. - 27(3):154-60.
51. Castagliuolo I., Galeazzi F., Ferrari S., Elli M., Brun P., Cavaggioni A., Tormen D., Sturniolo G., Morelli L., Palù G. Beneficial effect of auto-aggregating *Lactobacillus crispatus* on experimentally induced colitis in mice. *FEMS Immunol Med Microbiol.* - 2005. - 43:197–204.
52. Cataloluk O. and Gogebaken B. Presence of drug resistance in intestinal lactobacilli of dairy and human origin. *FEMS Microbiol. Lett.* - 2004. - 236:7-12.
53. Chauvière G., Coconnier M., Kerneis S., Fourniat J., Servin A. Adhesion of human *Lactobacillus acidophilus* strain LB to human enterocyte-like Caco-2 cells. *J Gen Microbiol.* - 1992. - 138:1689–1696.
54. Chopra I. and Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* - 2001. - 65:232-260.
55. Claesson M., van Sinderen D and O'Toole P. *Lactobacillus phylogenomics* – towards a reclassification of the genus. *Int J Syst Evol Microbiol.* - 2008. - 58:2945–2954.
56. Coconnier M., Klaenhammer T., Kerneis S., Bernet M., Servin A. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucussecreting cell lines in culture. *Appl Environ Microbiol.* - 1992. - 58:2034–2039.
57. Collado M., Gueimonde M., Hernández M., Sanz Y., Salminen S. Adhesion of selected Bifidobacterium strains to human intestinal mucus and the role of adhesion in enteropathogen exclusion. *J Food Prot.* - 2005. - 68:2672–2678.

58. Collado M., Gueimonde M., Sanz Y., Salminen S. Adhesion properties and competitive pathogen exclusion ability of bifidobacteria with acquired acid resistance. *J Food Prot.* - 2006. - 69:1675–1679.
59. Collado M., Gueimonde M., Salminen S. Probiotics in adhesion of pathogens: mechanisms of action; in Watson RR, Preedy VR (eds): *Bioactive Foods in Promoting Health*, Chennai, Academic Press, Elsev. - 2010. - 23:353–370.
60. Collins M., Williams A. and Wallbanks S. The phylogeny of *Aerococcus* and *Pediococcus* as determined by 16S rRNA sequence analysis: description of *Tetragenococcus* gen. *FEMS Microbiol. Lett.* - 1990. - 58:255-262.
61. Coppola R., Succi M., Tremonte P., Reale A., Salzano G. and Sorrentino E. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Lait.* - 2005. - 85:193-204.
62. Cotter P., Gahan C., Hill C. A glutamate decarboxylase system protects *Listeria monocytogenes* in gastric fluid. *Mol. Microbiol.* - 2001. - 40:465–475.
63. D'Aimmo M., Modesto M., Biavati B. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and Bifidobacteria spp. isolated from dairy and pharmaceutical products. *Int J Food Microbiol.* - 2007. - 115:35-42.
64. Davidson M. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In *Food microbiology: Fundamentals and frontiers*. Edited by M.P. Doyle, L.R. Beuchat & T.J. Montville. ASM press. Washington, USA. - 2001. - pp. 593-627.
65. Davison J. Genetic exchange between bacteria in the environment. *Plasm.* - 1999. - 42:73-91.
66. Delcour J., Ferain T., Deghorain M., Palumbo E. and Hols P. The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek.* - 1999. - 76:159-184.
67. de Leeuw E, Li X & Lu W. Binding characteristics of the *Lactobacillus brevis* ATCC 8287 surface layer to extracellular matrix proteins. *FEMS Microbiol Lett.* - 2006. - 260:210-215.
68. De Man J., Rogosa M., Sharpe M. A medium for the cultivation of lactobacilli *J Appl. Bacteriol.* - 1960. - 23:130-135.
69. de Nobel H., Lawrie L., Brul S., Klis F., Davis M., Alloush H., Coote P. Parallel and comparative analysis of the proteome and transcriptome of sorbic acid-stressed *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast.* - 2001. - 18(15):1413-28.

70. Díaz-Ropero M., Martín R., Sierra S., Lara-Villoslada F., Rodríguez J., Xaus J. and Olivares M. Two *Lactobacillus* strains, isolated from breast milk, differently modulate the immune response. J Appl Microbiol. - 2007. - 102(2):337-43.
71. Dimitrov Z., Gotova I., Chorbadiyska E. In vitro characterization of the adhesive factors of selected probiotics to Caco-2 epithelium cell line. Biotechnol Biotech Equipment. - 2014. - 28:1079- 1083.
72. Dortu C., Fickers P., Franz C.M.A.P., Ndagano D., Huch M., Holzapfel W., Joris B., Thonart P. Characterisation of an antilisterial bacteriocin produced by *Lactobacillus sakei* CWBI-B1365 isolated from raw poultry meat and determination of factors controlling its production. Probiotics Antimicrob. Proteins. - 2009. - 1:75-84.
73. Dr Sanjay Sharma. Food Preservatives and their harmful effects. International Journal of Scientific and Research Publications. - 2015. - 5(4):2250-3153.
74. Duell E., Lujan-Barroso L., Llivina C., Muñoz X., Jenab M., et. al. Vitamin C transporter gene (SLC23A1 and SLC23A2) polymorphisms, plasma vitamin C levels, and gastric cancer risk in the EPIC cohort. Genes Nutr. - 2013. - 8(6):549-60.
75. de Man J., Rogosa M. and Sharpe M. A medium for the cultivation of lactobacilli. J Appl Microbiol. - 1960. - 23:130-135.
76. De Roos A., Ward M., Lynch C. and Cantor K. Nitrate in public water supplies and risk of colon and rectum cancers. Epidemiol. - 2003. - 14(6):640-649.
77. Eidhin D., Perkins S., Francois P. et al. Clumping factor B (ClfB), a new surface-located fibrinogen-binding adhesin of *Staphylococcus aureus*. Mol Microbiol. - 1998. - 30:245-257.
78. European Commission. Technical guidance prepared by the Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) on the update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance. The EFSA J. - 2008. - 1-15.
79. FAO/WHO. *Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina. - 2001. - 1-4.
80. Felis Giovanna E. and Franco Dellaglio. Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria Curr. Issues Intest Microbiol. - 2007. - 8:44-61.

81. Flórez A., Delgado S., Mayo B. Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment. *Can J Microbiol.* - 2005. - 51:51-58
82. Foster J. and McVey Neufeld K. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences.* - 2013. - 36(5):305-312.
83. Furrie E., Macfarlane S., Kennedy A., Cummings J., Walsh S., O'neil D., Macfarlane G.. Synbiotic therapy (*Bifidobacterium longum*/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. *Gut.* - 2005. - 54:242–249.
84. Golowczyc M., Mobili P., Garrote G., Abraham A. and De Antoni G. Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis*. *Int J Food Microbiol.* - 2007. - 118:264-273.
85. Gonzalez C., Jakszyn P., Pera G. et al. Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst.* - 2006. - 98:345-54.
86. González-Rodríguez I., Sánchez B., Ruiz L., Turróni F., Ventura M., Ruas-Madiedo P., Gueimonde M., Margolles A. Role of extracellular transaldolase from *Bifidobacterium bifidum* in mucin adhesion and aggregation. *Appl Environ Microbiol.* - 2012. - 78:3992-3998.
87. Gopal P., Prasad J., Smart J., Gill H. In vitro adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR 20 and *Bifidobacterium lactis* DR 10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Int J Food Microbiol.* - 2001. - 67:207-216.
88. Gupta A. and Sharma N. Assessment of cell surface properties and adhesion potential of lactic acid bacteria isolated from Lasoda bari - A rare fermented food of Himachal Pradesh. *European Journal of Biotechnology and Bioscience.* - 2015. - 3(8):9-15.
89. Gueimonde M., Sánchez B., Reyes-Gavilán C., Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Frontiers in Microbiol.* - 2013. - 4:1-6.
90. Gusils C., Palacios, J. and Gonzalez S. Lectin-like protein fractions in lactic acid bacteria isolated from chickens. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* - 1999. - 22:11-15.
91. Habimana O., Semiao A., Casey, E. The role of cell-surface interactions in bacterial initial adhesion and consequent biofilm formation on nanofiltration/reverse osmosis membranes. *J Memb Scien.* - 2014. - 454:82-96.

92. Hadji Sfaxi I., El-Ghaish S., Ahmadova A., Rabesona H., Haertlé T., Chobert J.M. Characterization of new strain *Lactobacillus paracasei* I-N-10 with proteolytic activity: Potential role in decrease in β -casein immune-reactivity. *Eur. Food Res. Tech.* - 2012. - 235:447-452.
93. Haghshenas B., Haghshenas M., Nami Y., Yari Khosroushahi A., Abdullah N., Barzegari A., Rosli R., Hejazi M. Probiotic Assessment of *Lactobacillus plantarum* 15HN and *Enterococcus mundtii* 50H Isolated from Traditional Dairies Microbiota. *Adv Pharm Bull.* - 2016. - 6(1):37-47.
94. Hairullin D. and Zhestkov N. Hematologic and electrocardiographic sheep indices at nitrates and nitrites poisoning. *Proc Kazan State Acad Vet Med.* - 2011. - 208:288-293.
95. 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. *Curr. Microbiol.* - 2016. - 72:776-782.
96. Hamid A. Abdulmumeen, Ahmed N. Risikat and Agboola R. Sururah. Food: Its preservatives, additives and applications. *Int. Jo. Chemi. Biochemi. Sci.* - 2012. - 1:36-47.
97. Hammes W. Metabolism of nitrate in fermented meats: the characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiol.* - 2012. - 29:151-156.
98. Harmasheva I. and Kovalenko N. Adhesion of various species of lactic acid bacteria depending on the AB0 system blood group. *Mikrobiol.* - 2006. - 68(5):62-68.
99. Harutyunyan K. The influence of antibiotics on adhesive properties and survival of probiotic lactic acid bacteria. *Sci. Medi. J.* - 2015. -10(2):24-29.
100. Harutyunyan K., Soghomonyan D., Hakobyan L., Trchounian A. Adhesive properties and the F_0F_1 ATPase activity of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* 317/402 "Narine". 3-rd International Scientific Conference of Young Researchers. Dialogues on Science, Yerevan, Armenia. - 2015 - 72.
101. Hayek S. and Ibrahim S. Current Limitations and Challenges with Lactic Acid Bacteria: A Review. *Food and Nutrition Sciences.* - 2013. - (4)73-87.
102. Hernandez-Ramirez R., Galvan-Portillo M., Ward M., et al. Dietary intake of polyphenols, nitrate and nitrite and gastric cancer risk in Mexico City (link is external). *Int J Cancer.* - 2009. - 125(6):1424–30.

103. Higgins J., Loughman A., Kok P. van Kessel, Jos A. van Strijp & Timothy J. Foster. Clumping factor A of *Staphylococcus aureus* inhibits phagocytosis by human polymorphonuclear leucocytes. FEMS Microbiol Lett. - 2006. - 258:290-296.
104. Hirano J., Yoshida T., Sugiyama T., Koide N., Mori I., Yokochi T. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection of human intestinal cells in vitro. Microbiol Immunol. - 2003. - 47:405– 409.
105. Homayouni A., Alizadeh M., Alikhah H. and Zijah V. Functional Dairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products, Probiotics, Prof. Everlon Rigobelo (Ed.), InTech, 2012. Available from:
<http://www.intechopen.com/books/probiotics/functional-dairy-probiotic-food-development-trends-concepts-and-products>
106. Hooper L. and Macpherson A. Immune Adaptations That Maintain Homeostasis with the Intestinal Microbiota. Nature Reviews Immunology. - 2010. - 10:159-169.
107. Horosova K., Bujnakova D., Kmet V. Effect of *Lactobacilli* on *E. coli* Adhesion to Caco-2 Cells in vitro. Folia Microbiol. - 2006. - 51(4):281-282.
108. Hsiao E., McBride S., Hsien S., Sharon G., Hyde E., McCue T., Codelli J., Chow J., Reisman S., Petrosino J., Patterson P., Mazmanian S. Microbiota Modulate Behavioral and Physiological Abnormalities Associated with Neurodevelopmental Disorders. Cell. - 2013. - 155(7):1451-1463.
109. Hsu A., Brauer D., Tu S. Adenosine diphosphatase and adenosine triphosphatase activities of maize tonoplast-enriched vesicles. J. Plant Nutr. - 1995. - 18(8):1637-1647.
110. Huang C., Lee F. The dnaK gene as a molecular marker for the classification and discrimination of the *Lactobacillus casei* group. Antonie van Leeuwenhoek. - 2011. - 99:319-327.
111. Huili P., Guangyong Q., Zhongfang T., Zongwei L., Yanping W., Yimin C. Natural populations of lactic acid bacteria associated with silage fermentation as determined by phenotype, 16S ribosomal RNA and recA gene analysis. Syst Appl Microbiol. - 2011. - 34(3):235-241.
112. Hummel S., Veltman K., Cichon C., Sonnenborn U., Schmidt M. Differential targeting of the E-cadherin/ β -catenin complex by Gram-positive probiotic lactobacilli improves epithelial barrier function. Appl Environ Microbiol. - 2012. - 78:1140–1147.

113. Hutkins R. and Morris H. Carbohydrate metabolism in *Streptococcus thermophilus*: A review. Food Protection. - 1987. - 50:876–884.
114. Hwanhlem N., Buradaleng S., Wattanachant S., Benjakul S. Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (*Plasom*) and production of *Plasom* from selected strains. Food Control. - 2011. - 22:401-407.
115. Hynönen U., Westerlund-Wikström B., Palva A. and Korhonen T. Identification by flagellum display of an epithelial cell- and fibronectin-binding function in the SlpA surface protein of *Lactobacillus brevis*. J Bacteriol. - 2002. - 184:3360-3367.
116. International Agency for Research on Cancer. Overall Evaluation of Carcinogenicity to Humans. IARC monographs. - 2004. - 1-82. Available from: <http://monographs.iarc.fr>
117. Isenberg S. The fall and rise of chloramphenicol. J AAPOS. - 2003. - 7(5):307-308.
118. Iammarino M., Di Taranto A. and Cristino M. Endogenous levels of nitrites and nitrates in wide consumption foodstuffs: Results of five years of official controls and monitoring. Food Chemis. - 2013. - 140:763-771.
119. Jakava-Viljanen M., Palva A. Isolation of surface (S) layer protein carrying *Lactobacillus* species from porcine intestine and faeces and characterization of their adhesion properties to different host tissues. Vet Microbiol. - 2007. - 124:264-273.
120. Jakszyn P. and Gonzalez C.A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. World J Gastroenterol. - 2006. - 12:4296-4303.
121. Jin Y., Ai H., Cheng J., Wu M. First description of a novel Weissella species as an opportunistic pathogen for rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in China. Veterinary Microbiol. - 2009. - 136(3-4):314-320.
122. Johnson-Henry K., Hagen K., Gordonpour M., Tompkins T. and Sherman P. Surface-layer protein extracts from *Lactobacillus helveticus* inhibits enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 adhesion to epithelial cells. Cell Microbiol. - 2007. - 9:356-367.
123. Josefsson E., Hartford O., O'Brien L., Patti J. and Foster T. Protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. J Infect Dis. - 2001. - 184:1572-1580.

124. Juntunen M., Kirjavainen P., Ouwehand A., Salminen S., Isolauri E. Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants and during rotavirus infection. Clin Diag Lab Immunol. - 2001. - 8:293-296.
125. Kajfasz J. and Quivey R. Responses of lactic acid bacteria to acid stress. in Tsakalidou E., Papadimitriou K. (ed-s), Stress responses of lactic acid bacteria. NY 10013, USA. - 2011 – pp. 23-46.
126. Kakinuma Y. Inorganic cation transport and energy transduction in *Enterococcus hirae* and other *streptococci*. Microbiology, Molecular Biology Rev. - 1998. - 62:1021-1045.
127. Kalalou I., Faid M. and Ahami A. Extending shelf life of fresh minced camel meat at ambient temperature by *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii*. Electronic Journal of Biotechnol. - 2004. - 3:7:1-6.
128. Kamada N., Seo S., Chen G. and Núñez G. Role of the Gut Microbiota in Immunity and Inflammatory Disease. Nature Reviews Immunol. - 2013. - 13:321-335.
129. Kang S., Hoek E.M.V., Choi H., Shin H. Effect of Membrane Surface Properties During the Fast Evaluation of Cell Attachment, Separation Science and Technol. - 2006. - 41:1475-1487.
130. Karlsson H., Hessel C., Rudin A. Infection and Immunity. - 2002. - 11:6688-6696.
131. Kashket E. R. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. FEMS Microbiology Rev. - 1987. - 46:233-244.
132. Kelsen J. and Wu G. The gut microbiota, environment and diseases of modern society. Gut Microbes. - 2012. - 3(4):374-382.
133. Kenji O., Qiao Z., Satoru S., Shogo Y., Tsutomu T., Hideki F., Akihiko K. Efficient production of optically pure D-Lactic Acid from raw corn starch by using a genetically modified L-Lactate dehydrogenase gene-deficient and -Amylase-secreting *Lactobacillus plantarum* strain. Applied and Environmental Microbiol. - 2009. - 75(2):462-467.
134. Kim Y. and Ho S. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. Curr Gastroenterol Rep. - 2010. - 12:319-330.
135. Kita H. and Kishida T. Induction and increase of interferon producing capacities by “Narine”. The Clinical Report. - 1987. - 21(12):71-74.

136. Klaenhammer T., Barrangou R., Buck B., Azcarate-Peril M. and Altermann E. Genomic Features of Lactic Acid Bacteria Effecting Bioprocessing and Health. FEMS Microbiology Rev. - 2005. - 29:393-409.
137. Klare I., Konstabel C., Werner G., Huys G., Vankerckhoven V., Kahlmeter G., Hildebrandt B., Muller-Bertling S., Witte W. and Goossens H. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. J Antimicrob Chemother. - 2007. - 59:900-912.
138. Kleerebezem M. and Vaughan E. Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity. Annu Rev Microbiol. - 2009. - 63:269–290.
139. Kobayashi H. A proton-translocating ATPase regulates pH of the bacterial cytoplasm. Journal of Biological Chemistry. - 1985. - 260:72–76.
140. Kolida S. and Gibson G. Synbiotics in health and disease. Annu. Rev. Food Sci. Technol. - 2011. - 2:373-393.
141. Konings W. and Kaback H. Anaerobic transport in *Escherichia coli* membrane vesicles. Proc Natl Acad Sci U S A. - 1973. - 70(12):3376-81.
142. Korhonen J., Danielsen M., Mayo B., Egervärn M., Axelsson L., Huys G. and von Wright A. Antimicrobial susceptibility and proposed microbiological cut-off values of *lactobacilli* by phenotypic determination. Int J Prob Preb. - 2008. - 3:257-268.
143. Kos B., Suskovic J., Ukovic S., Simpraga M., Frece J. and Matosic S. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. J Appl Microbiol. - 2003. - 94:981-987.
144. Kullen M, Klenhammer T. Identification of pH-inducible, proton-translocating F₁F₀-ATPase (atpBEFHAGDC) operon of *Lactobacillus acidophilus* by different display: gene structure, cloning and characterization. Molec. Microbiol. - 1999. - 33:1152-1161.
145. Larsson S. and Orsini N., Wolk A. Processed meat consumption and stomach cancer risk: A meta-analysis. J. Natl. Cancer Inst. - 2006. - 98:1078–1087.
146. Larsen N., Vogensen F., van der Berg F., Nielelsen D., Andreasen A., Pedersen B., Al-Soud W., Sorensen S., Yansen L., Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabets differs from non-diabetic adults. PLoS ONE. - 2010. - 5;5(2):e9085.

147. LeBlanc J., Laino J., Juarez del Valle M., Vannini V., van Sinderen D., Taranto M., Font de Valdez G., Savoy de Giori G., Sesma F. B-group vitamin production by lactic acid bacteria – current knowledge and potential applications, J. Appl. Microbiol. - 2011. - 111:1297-1309.
148. Lebeer S., Vanderleyden J. and De Keersmaecker S. Genes and Molecules of *Lactobacilli* Supporting Probiotic Action. Microbiology and Molecular Biology Rev. - 2008. - 72:728-764.
149. Lekar A., Yakovishin L., Borisenko S., et al. Complexation of antibiotic levomycetin (Chloroamphenicol) with α -hederin and hederasaponin c under the conditions of electrospray ionization). Journal of Analytical Chemist. - 2011. – 66(14):1437-1440.
150. Levy S. and Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. Nat Med. - 2004. - 10(Suppl 12):S122-9.
151. Line J., Svetoch E., Eruslanov B., Perelygin V., Mitsevich E., Mitsevich I., Levchuk V., Svetoch O., Seal B., Siragusa G., Stern N. Isolation and purification of Enterocin E-760 with broad antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative bacteria. Antimicrob. Agents Chemother. - 2008. - 52:1094-1100.
152. Liong M. Safety of probiotics: translocation and infection. Nutr Rev. - 2008. - 66: 192-202.
153. Liu C. and Russell R. Nutrition and gastric cancer risk: an update. Nutr Rev. - 2008. - 66:237–249.
154. Ljungh A. and Wadström T. Lactic acid bacteria as probiotics. Curr. Iss. Intest. Microbiol. - 2006. – 7:73–89.
155. Lohnis F. Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie., (Oebr. Bomtrager), Berlin. - 1910. - 1874-1930.
156. Lorca G., Torino M., de Valdez G. and Ljungh Å. *Lactobacilli* express cell surface proteins which mediate binding of immobilized collagen and fibronectin. FEMS Microbiol Lett. - 2002. - 206:31-37.
157. Lowery O., Rosenbrough N., Farr A., Randall R. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. Nov. - 1951. - 193(1):265-275.
158. Lück E. Food applications of sorbic acid and its salts. Food Addit Contam. - 1990. -7(5):711-5.
159. Mackenzie D., Jeffers F., Parker M., Vibert-Vallet A., Bogaerts R., Roos S., Walter J., Juge N. Strain-specific diversity of mucus-binding proteins in the adhesion and

- aggregation properties of *Lactobacillus reuteri*. Microbiol. - 2010. - 156:3368-3378.
160. Macfarlane S. and Macfarlane G. Regulation of short-chain fatty acid production. Proc Nutr Soc. - 2003. - 62:67–72.
 161. Madsen K., Cornish A., Soper P., McKaigney C., Jijon H., Yachimec C., Doyle J., Jewell L. and De Simone C. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. Gastroenterol. - 2001. - 121:580-91.
 162. Mataragas M., Metaxopoulos J., Galiotou M. & Drosinos E. Influence of pH and Temperature on Growth and Bacteriocin Production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. Meat Sciences. - 2003. - 64: 265 – 271.
 163. Mathur S. and Singh R. (2005) Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. Int J Food Microbiol. - 2005. - 105(3):281-95.
 164. Matthew J. Bull, Keith A. Jolley, James E. Bray, Maarten Aerts, Peter Vandamme, Martin C. J. Maiden, Julian R. Marchesi and Eshwar Mahenthiralingam. The domestication of the probiotic bacterium *Lactobacillus acidophilus*. Scientific Reports 4. - 2014. - 4:7202.
 165. Mattila T., Saarela M. Probiotic Functional Foods. In: Functional foods, Williams and Gibson R.G. (Ed), CRC Press LLC. Boca Raton, Boston, New York, Washington, DC. - 2000. - 287-313.
 166. McManus P., Stockwell V., Sundin G., Jones, A. Antibiotic use in plant agriculture. Annual Review of Phytopathol. - 2002. - 40:443-465.
 167. Meng Q., Yan L., Ao X., Zhou T., Wang J., Lee J., Kim I. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs. J. Anim. Sci. - 2014. - 88:3320–3326.
 168. Michael Davidson P., Sofos John N., Branen A. Antimicrobials in food. Third Edition. - 2005. - 706 p.
<http://base.dnsgb.com.ua/files/book/Agriculture/Foods/Antimicrobials-in-Food.pdf>.
 169. Michaela S., Reinhard W., Gerhard K., Christine M-E. Cultivation of anaerobic and facultatively anaerobic bacteria from spacecraftassociated clean rooms. Appl Environ Microbiol. - 2009. - 11(75):3484-3491.

170. Mitacek E., Brunnemann K., Suttajit M. et al. Geographic distribution of liver and stomach cancers in Thailand in relation to estimated dietary intake of nitrate, nitrite, and nitrosodimethylamine. *Nutr Cancer*. - 2008. - 60:196-203.
171. Moal V. and Servin A. The Front Line on Enteric Host Defence against Unwelcome Intrusion of Harmful Microorganisms: Mucins, Antimicrobial Peptides and Microbiota. *Clinic Microbiol Rev*. - 2006. - 19:315-337.
172. Moloney R., Desbonnet L., Clarke G., Dinan T., Cryan J. The microbiome: stress, health and disease. *Mamm Genome*. - 2014. - 25:49-74.
173. Montaña A., Sánchez A., Casado F., Beato V., de Castro A. Degradation of ascorbic acid and potassium sorbate by different *Lactobacillus* species isolated from packed green olives. *Food Microbiol*. - 2013. - 34(1):7-11.
174. Morelli L., Calleagri M.L., Vogensen F.K. and von Wright, A. Genetics of Lactic Acid Bacteria. In: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and von Wright, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 4th Edition, Taylor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton,. - 2012. - 17-38.
175. Moser T., Kenan D., Ashley T., Roy J., Goodman M., Misra U., Cheek D., Pizzo S. Endothelial cell surface F_1 - F_0 ATP synthase is active in ATP synthesis and is inhibited by angiostatin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 2001. - 98:6656–6661.
176. Nathan S. Bryan, Dominik D. Alexander, James R. Coughlin, Andrew L. Milkowski, Paolo Boffetta. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: An updated review. *Food and Chemical Toxicol*. - 2012. - 50(10):3646–3665.
177. Nazni P. and Komathi K. Quality characteristics and acceptability of papaya pulp incorporated yoghurt, *International Journal of Food and Nutritional Sciences*. - 2014. - 3(3):158-162.
178. Nes I., Kjos M., Diep D. Antimicrobial components of Lactic Acid Bacteria. Lahtinen S., Salminen S., Ouwehand A.C., von Wright A. (eds.) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*, 4th ed. - Taylor & Francis, Abingdon, UK. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. - 2012. - 285-329.
179. Nicholson J., Holmes E., Kinross J., Burcelin R., Gibson G., Jia W., Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*. - 2012. - 336(6086):1262-1267.
180. Niv Y., Turani H., Fraser G.. Histochemical characterization of mucosal mucin in serial biopsies along the human colon. *Digestion*. - 1996. - 57:109-112.

181. Nomura M., I. Nakajima Y. Fujita, M. Kobayashi H., Kimoto I. Suzuki, and H. Aso. *Lactococcus lactis* contains only one glutamate decarboxylase gene. Microbiol. - 1999. - 145:1375–1380.
182. O'Connell D., Nanavaty T., McDevitt D. et al. The fibrinogen-binding MSCRAMM (clumping factor) of *Staphylococcus aureus* has a Ca²⁺-dependent inhibitory site. J Biol Chem. - 1998. - 273:6821–6829.
183. O'Connor E., Barret, E., Fitzgerald G., Hill C., Stanton C., Ross R. Production of vitamins, exopolysaccharides and bacteriocins by probiotic bacteria, In: Tamime AY, editor. Probiotic Dairy Products. - 2005. - Blackwell Publishing, Oxford, UK, 167.
184. Ofek I. and Doyle R. Bacterial adhesion to cells and tissues. Chapman & Hall, New York. - 1994. - 513-562.
185. Ohland C. and Macnaughton W. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. - 2010. - 298:G807–G819.
186. Oliveira A., Nielsen J. and Förster J. Modeling *Lactococcus lactis* using a genome-scale flux model. BMC Microbiol. - 2005. - 5:39.
187. Orla-Jensen S. The Lactic Acid Bacteria. Andr. Fred. Host and Son, Copenhagen. - 1919. - 157p.
188. Ou J., Carbonero F., Zoetendal E., DeLany J., Wang M., Newtonm K. et al. Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural africans and african americans. Am J Clin Nutr. - 2013. - 98:111-120.
189. Ouwehand A. and Vesterlund S. Health Aspects of Probiotics. Drugs. - 2003. - 6:573-580.
190. Ouwehand A., Bianchi Salvadori B., Fonden R., Mogensen G., Salminen S., Sellara R. Health Effects of Probiotics and Culture-Containing Dairy Products in Humans. Bulliten of the International Dairy Federation. - 2003. - 380:4-19.
191. Pal J., Sanal M., Gopal G. Vitamin-C as anti-*Helicobacter pylori* agent: more prophylactic than curative- Critical review. Indian J Pharmacol. - 2011. - 43:624-627.
192. Pandey R., Pieper G., Ter Beek A., Vischer N., Smelt J., Manders E., Brul S. Quantifying the effect of sorbic acid, heat and combination of both on germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* spores at single cell resolution. Food Microbiol. - 2015. - 52:88-96.

193. Papadimitriou K., Pratsinis H. and Nebe-von-Caron G. Acid tolerance of *Streptococcus macedonicus* as assessed by flow cytometry and single-cell sorting. Appl Environ Microbiol. - 2007. - 73:465–476.
194. Papagianni M., Avramidis N., Filioussis G., Dasiou D. and Ambrosiadis I. Determination of bacteriocin activity with bioassays carried out on solid and liquid substrates: assessing the factor “indicator microorganism”. Microb. Cell Fact. - 2006. - 50:30.
195. Parada J., Caron C., P. Medeiros A. and Soccol C. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives. Brazilian archives of biology and technology, an international journal. - 2007. - 50(3):521-542.
196. Parvez S., Malik K., Ah Kang S. and Kim H.-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J Appl Microbiol. - 2006. - 100: 1171– 1185.
197. Patel A., Shah N., Prajapati J. Biosynthesis of vitamins and enzymes in fermented foods by lactic acid bacteria and related genera - A promising approach. Croat. J. Food Sci. Technol. - 2013. - 5(2)85-91.
198. Peng Song, Lei Wu and Wenxian Guan. Dietary Nitrates, Nitrites, and Nitrosamines Intake and the Risk of Gastric Cancer: A Meta-Analysis. Nutrients. - 2015. - 7:9872–9895.
199. Pepoyan A., Trchounian A. Biophysics, molecular and cellular biology of probiotic activity of bacteria. In Bacterial Membranes. A. Trchounian (ed.). Res. Signpost: Kerala (India). - 2009. – pp. 275-287.
200. Philippe H., Anne-Claire C., Dennis A., Patrick B., Christophe F., Rodolphe B. Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. Int J Food Microbiol. - 2009. - 131(1):62-70.
201. Plumed-Ferrer C. and von Wright A. Antimicrobial activity of weak acids in liquid feed fermentations, and its effects on yeasts and lactic acid bacteria. J Sci Food Agric. – 2011. - 91(6):1032-40.
202. Pradeepa P., Prasad M., Aswini V., Moneesha R. Anti-Microbial activity of probiotic *Lactobacilli* and optimization of bacteriocin production. International Journal for Scientific Research & Development. - 2013. - 1:6.
203. Quinto E., Jiménez P., Caro I., Tejero J., Mateo J. and Girbés T. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. Food and Nutrition Sciences. - 2014. - 5:1765-1775.

204. Rafter J., Bennett M., Caderni G., et al. Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients. *Am J Clin Nutr.* - 2007. - 85:488–496.
205. Rajaraman S., Subbiahdoss G., Dhakshinamoorthy G., Rajakannu S. *Ocimum Sanctum* extract coating on biomaterial surfaces to prevent bacterial adhesion and biofilm growth. *Asian J Pharm Clin Res.* - 2015. - 8(3):229-233.
206. Ranadheera S., Evans G., Adams M., Baines C. Effect of dairy probiotic combinations on in vitro gastrointestinal tolerance, intestinal epithelial cell adhesion and cytokine secretion. *J Funct Foods.* - 2014. - 8:18–25.
207. Rasel Barua, H. M. Abdullah Al Masud, Md. Nuruddin Mahmud, Mohammad Abdul Hakim. Assessment of Potential Probiotic *Lactobacillus* Strains Isolated from Goat Milk. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences.* - 2015. - 10(4):09-15.
208. Ricke S. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poult Sci.* - 2003. - 82:632–639
209. Roberts M., Sutcliffe J., Courvalin P., Jensen L.B., Rood J., Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide– lincosamide–streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob. Agents Chemother.* - 1999. – 43:2823–2830.
210. Rodriguez C., Medici M., Mozzi F., de Valdez G. Therapeutic Effect of *Streptococcus thermophilus* CRL 1190 – Fermented Milk on Chronic Gastritis. *World Journal of Gastroenterol.* - 2010. - 16:1622-1630.
211. Rojo-Bezares, B., Sáenz, Y., Poeta, P., Zarazaga, M., Ruiz-Larrea, F., and Torres, C. Assessment of antibiotic susceptibility within lactic acid bacteria strains isolated from wine. *Int J Food Microbiol.* - 2006. - 111:234–240.
212. Roos S., Aleljung P., Robert N., Lee B., Wadström T., Lindberg M. and Jonsson H. A collagen binding protein from *Lactobacillus reuteri* is part of an ABC transporter system? *FEMS Microbiol Lett.* - 1996. - 144:33-38.
213. Roos S. and Jonsson H. A high-molecular-mass cell-surface protein from *Lactobacillus reuteri* 1063 adheres to mucus components. *Microbiol.* - 2002. - 148:433-442.
214. Saeed R., Elyas Y., Yousif NME, Eltayeb M., Ahmed IAM. Incidence of Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria (LAB) Isolated from Various Sudanese Fermented Foods. *J Food Nutr Disor.* - 2014. - 3:6.

215. Saito S., Kobayashi M., Kimoto-Nira H., Aoki R., Mizumachi K., Miyata S., Yamamoto K., Kitagawa Y., Suzuki C. Intraspecies discrimination of *Lactobacillus paraplantarum* by PCR. FEMS Microbiology Lett. - 2011. - 316:70-76.
216. Salminen S., Nybom S., Meriluoto J., Carmen Collado M., Vesterlund S., El-Nezami H. Interaction of Probiotics and Pathogens—Benefits to Human Health? Current Opinion in Biotechnol. - 2010. - 21:157-167.
217. Samson R., Hoekstra E., Frisvad J., Filtenborg O. (Eds.). Introduction To Food-borne Fungi, CBS, Baarn, The Netherlands. - 1995. - 322 p.
218. Sánchez B, Urdaci MC, Margolles A. Extracellular proteins secreted by probiotic bacteria as mediators of effects that promote mucosa- bacteria interactions. Microbiol. - 2010. - 156:3232–3242.
219. Sanders M. and Klaenhammer T. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. J Dairy Sci. - 2001. – 84:319-331.
220. Sanglard D. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. Current Opinion in Microbiol. - 2002. – 5:379-385.
221. Sartor R. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol. - 2006. - 3:390–407.
222. Sasazuki S., Hayashi T., Nakachi K., Sasaki S., Tsubono Y., Okubo S., Hayashi M., Tsugane S. Protective effect of vitamin C on oxidative stress: a randomized controlled trial. Int J Vitam Nutr Res. - 2008. - 78:121–128. doi: 10.1024/0300-9831.78.3.121.
223. Schiffrin E., Brassart D., Servin A., Rochat F., Donnet-Hughes A. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. Am J Clin Nutr. - 1997. - 66:515S–520S.
224. Schleifer K. and Ludwig W. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiology Rev. - 1995. - 59:143-169.
225. Shah N. Functional cultures and health benefits. Int Dairy J. - 2007. - 17:1262-1277.
226. Sica M., Olivera N., Brugnoli L., Marucci P., López Cazorla A., Cubitto M. Isolation, identification and antimicrobial activity of lactic acid bacteria from the Bahía Blanca Estuary. Rev. Biol. Mar. Oceanogr. - 2010. - 45:389–397.

227. Sievers M., Uermösi C., Fehlmann M., Krieger S. Cloning, sequence analysis and expression of the F₁F₀-ATPase beta-subunit from wine lactic acid bacteria. *Syst Appl Microbiol.* - 2003. - 26(3):350-6.
228. Sindelar J. and Milkowski A. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide: Biol Chem.* - 2012. – 26:259-266.
229. Singh S., Goswami P., Singh R., Heller K.J. Application of molecular identification tools for *Lactobacillus*, with a focus on discrimination between closely related species: a review. *LWT - Food science and technol.* - 2009. – 42:448-457.
230. Sofos J. Sorbic acid, mode of action. In: *Encyclopedia of microbiology*, Vol. 4. Ed. Lederberg J. Academic Press Inc, Sand Diego, CA, - 1992. - 43–52.
231. Song Y., Kato N., Liu C., Matsumiya Y., Kato H., Watanabe K. Rapid identification of 11 human intestinal *Lactobacillus* species by multiplex PCR assays using group- and species-specific primers derived from 16S-23S rRNA intergenic spacer region and its flanking 23S rRNA. *FEMS Microbiol. Lett.* - 2000. - 187:167-173.
232. Song M., Yun B., Moon J., Park D., Lim K., Oh S. Characterization of Selected *Lactobacillus* Strains for Use as Probiotics. *Korean J. Food Sci. An.* - 2015. - 35(4):551-556.
233. Stankowska D., Kwinkowsko M., Kaca W. Quantification of *Proteus mirabilis* virulence factors and modulation by acylated homoserine lactones. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* - 2008. - 41:243-253.
234. Sugimura Yuya, Hagi Tatsuro, Hoshini Takayuki. Correlation between in vitro Mucus Adhesion and the in Vivo Colonization Ability of Lactic Acid Bacteria: Screening of New Candidate Carp Probiotics. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* - 2011. - 75(3):511-515.
235. Sun Z, Kong J, Hu S, Kong W, Lu W, Liu W. Characterization of a S-layer protein from *Lactobacillus crispatus* K313 and the domains responsible for binding to cell wall and adherence to collagen. *Applied Microbiology and Biotechnol.* - 2013. - 97(5):1941-1952.
236. Sunkata R., Herring J., Walker L. and Verghese M. Chemopreventive Potential of Probiotics and Prebiotics. *Food and Nutrition Scienc.* - 2014. – 5:1800-1809. doi: 10.4236/fns.2014.518194.
237. SVARM (2007). Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. The NVI (SVA), Uppsala, Sweden, 2008. ISSN 1650-6332.

238. Swedres (2007). A Report on Swedish Antimicrobial Utilisation and Resistance in Human Medicine. Swedish Institute for Infectious Disease Control, Sweden, 2008. ISSN 1400-3473.
239. Tannenbaum S., Wishnok J., Leaf C. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. *Am J Clin Nutr.* - 1991. - 53:247S–250S.
240. Taussky H. and Shorr E. *biol. Chem.* - 1953 - 202:675.
241. Telford J., Barocchi M., Margarit I., Rappuoli R., Grandi G. Pili in gram–positive pathogens. *Nat Rev Microbiol.* - 2006. - 4(7):509–519.
242. Tomoko Nishimaki-Mogami, Akira Tanaka, Ken-Ichiro Minegishi and Atsushi Takahashi. Effect of sorbic acid feeding on peroxisomes and sorboyl-CoA metabolizing enzymes in mouse liver. Selective induction of 2,4-dienoyl-coa hydratase. *Biochemical Pharmacology.* - 1991. - 42(2):239-246.
243. Toprak E., Veres A., Michel JB. et al. Evolutionary paths to antibiotic resistance under dynamically sustained drug selection. *Nature Genetics.* - 2012. - 44:101-105.
244. Tortora G. J., Funke B. R., Case C. L. *Microbiology: An Introduction* (10th Edition). - 2010. – pp. 114-136.
245. Tremaroli V. Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature.* - 2012. - 489(7415):242-249.
246. Tsugane S., Sasazuki S., Kobayashi M. and Sasaki S. Salt and salted food intake and subsequent risk of gastric cancer among middle-aged Japanese men and women. *Brit J Cancer.* - 2004. - 90:128-134.
247. Turner B. and Beach C. The effect of silage on acidity of milk. *Storrs Agr. Exp. Sta. 16th An. Report.* - 1904. - 150-151.
248. Turrone F., Ventura M., Buttó L., Duranti S., O'Toole P., O'Connell Motherway M., Douwe van Sinderen D. Molecular dialogue between the human gut microbiota and the host: a *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* perspective. *Cell. Mol. Life Sci.* - 2014. - 71:183–203.
249. Vadillo-Rodriguez, V., Busscher H., Norde W., de Vries J. and van der Mei H. "On Relations between Microscopic and Macroscopic Physicochemical Properties of Bacterial Cell Surfaces: An AFM Study on *Streptococcus mitis* Strains." *Langmuir.* - 2003. - 19(6):2372-2377.

250. Vadillo-Rodriguez V., Busscher H., Norde W., de Vries J. & van der Mei H. Dynamic cell surface hydrophobicity of *Lactobacillus* strains with and without surface layer proteins. J Bacteriol. - 2004. - 186: 6647-6650.
251. Vangay P., Ward T., Gerber J., Knights D. Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. Cell Host Microbe. - 2015. - 17(5):553-64.
252. Van Hoek A., Mevius D., Guerra B., Mullany P., Roberts AP., and H. J. M. Aarts. "Acquired antibiotic resistance genes: an overview," Frontiers in Microbiol. - 2011. - 2:203.
253. Van Tassell M. and Miller M.: *Lactobacillus* adhesion to mucus. Nutrients. - 2011. - 3: 613–636.
254. Velegol S. and Logan B. "Contributions of bacterial surface polymers, electrostatics, and cell elasticity to the shape of AFM force curves", Langmuir. - 2002. - 18(13):5256-5262.
255. Vélez M., De Keersmaecker S., Vanderleyden J. Adherence factors of *Lactobacillus* in the human gastrointestinal tract. FEMS Microbiol Lett. - 2007. - 276:140–148.
256. Vernachio J., Bayer A., Le T., Chai Y., Prater B., Schneider A., Ames B., Syribeys P., Robbins J. & Patti J. Anti-clumping factor A immunoglobulin reduces the duration of methicillinresistant *Staphylococcus aureus* bacteremia in an experimental model of infective endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. - 2003. - 47:3400–3406.
257. Voltan S., Castagliuolo I., Elli M., Longo S., Brun P., D'Incà R., Porzionato A., Macchi V., Palù G., Sturniolo G., Morelli L., Martines D. Aggregating phenotype in *Lactobacillus crispatus* determines intestinal colonization and TLR2 and TLR4 modulation in murine colonic mucosa. Clin Vaccine Immunol. - 2007. - 14:1138–1148.
258. Von Wright and Lars Axelsson. Lactic acid bacteria: An introduction Lahtinen S., Salminen S., Ouwehand A.C., von Wright A. (eds.) Lactic Acid Bacteria: microbiological and functional aspects, 4th ed. - Taylor & Francis, Abingdon, UK. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. - 2012. - pp. 1-16.
259. Waksman S. "What Is an Antibiotic or an Antibiotic Substance?" Mycology. - 1947. - 39(5):565-569.

- 260. Walter J. Ecological role of *Lactobacilli* in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research. Appl Environ Microbiol. - 2008. - 74: 4985–4996.
- 261. Watnick P. and Kolter R. Biofilm, city of microbes. J Bacteriol. - 2000. - 182:2675-9.
- 262. [WHO] World Health Organization. Nitrate and nitrite in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality. - 2011. - 10-13.
- 263. ZoBell C. and Allen E. Attachment of marine bacteria to submerged slides. Proc Soc Exp Biol Med. - 1933. - 30:1409-1411.