

ներ և էնտերոկոկեր [1, 2, 6, 7]: Սակայն ավելի ուշ հրատարակված աշխատանքներում նշվում է, որ կրծքի կաթը պարունակում է պրոբիոտիկ ներուժ ունեցող տարբեր տեսակի լակտոբացիլներ, լակտոկոկեր և այլ կաթնաթթվային բակտերիաներ [3, 8, 9]: Այս միկրոօրգանիզմների առկայությունը մայրական կաթում նորածինների աղիքային միկրոֆլորայի գաղութացման հիմնական պայմանն է: Այն փաստը, որ առողջ կանանց կրծքի կաթից անջատած նշված բակտերիաները մեկուսացվել են տարբեր երկրներում, վկայում է նրանց տարածվածության մասին: Հետևաբար՝ դրանք պետք է դիտարկել որպես մայրական կաթի և կաթնագեղձերի բնականոն միկրոբիոտա, այլ ոչ թե աղտոտվածություն:

Այսպիսով, մայրական կաթը համարվում է պրոբիոտիկ բակտերիաների աղբյուր [1-3], որը պաշտպանում է նորածիններին զանազան ինֆեկցիոն հիվանդություններից: Ցույց է տրվել, որ եթե հղիության 6 – րդ ամսից սկսած կինը պարբերաբար պերորալ ընդունի որոշակի պրոբիոտիկ շտամի պատրաստուկ, ապա այն հետագայում հայտնաբերվում է կրծքի կաթում [2, 3]:

Տվյալ աշխատանքի խնդիրն է ուսումնասիրել մայրական կաթից անջատած բակտերիաների պրոբիոտիկ հատկությունները՝ հետագայում նրանց բժշկության մեջ կիրառելու նպատակով:

Նյութը և մեթոդները: Հետազոտության նյութը հայաստանաբնակ կանանց մայրական կաթից մեր կողմից անջատված լակտոբացիլների (*Lactobacilli*) և լակտոկոկերի (*Lactococci*) շտամներն են, ինչպես նաև *Escherichia coli* MDC 5003 O157:H7, *Candida albicans* MDC 8013 թեստ-շտամները, որոնք ստացվել են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսաստեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Մանրէների ավանդադրման կենտրոնից:

Աշխատանքում օգտագործվել են հետևյալ միջավայրերը՝ LAPTg ազար և արգանակ [10], տրիպտոգ ազար (Ferak Berlin), լիարժեք արգանակ՝ Nutrient broth standart 1 (Serva), Էյկմանի միջավայրը [9] և նյութերը՝ մեթիլեն կապույտ, լեդի (Micromaster), Գրամի ներկման հավաքածու (Gram Staining Set, Ghatran, IIR), ջրածնի պերօքսիդ (H_2O_2), օքսիդազային սկավառակներ (HiMedia), յուղազերծ կաթ, L-արգինին (Sigma), NaCl, NaOH, Նեսսլերի լուծույթ և ստերջ թղթե սկավառակներ: ԿԹԲ շտամների կայունությունը 20%-անոց լեդու, 2.0 – 6.5 % NaCl-ի և NaOH-ի տարբեր խտությունների նկատմամբ ուսումնասիրվել են LAPTg արգանակում, արգինինից ամոնիակի անջատումը Նեսսլերի լուծույթով, իսկ աճը 0.1% մեթիլեն կապույտում՝ յուղազերծ կաթում:

Հակամանրեային ակտիվությունը որոշվել է գիշերային կուլտուրաների վերնստվածքային հեղուկներում թրջված թղթե սկավառակների տեղադրումով թեստ-կուլտուրաներով ինոկուլացված տրիպտոգ

ագարի վրա: Հաջորդ օրը՝ թեստ կուլտուրաների ինկուբացումից հետո, չափվել են աճի ճնշման գոտիները:

Պրոտեոլիտիկ ակտիվությունը որոշվել է կաթնաթթվային բակտերիաների (ԿԹԲ) շտամների վերնաստվածքային հեղուկներով թրջված թղթե սկավառակների տեղադրումով Էյկմանի ագարային միջավայրի մակերեսին:

Անջատված բակտերիաները ներկվել են ըստ Գրամի և ուսումնասիրվել ՄԲԻ – 3 լուսային մանրադիտակով ֆազոկոնտրաստի կիրառմամբ: Շտամների կատալազային և օքսիդազային ակտիվությունները ստուգվել են հայտնի մեթոդներով [1]:

Արդյունքները և դրանց քննարկումը: Հայաստանաբնակ կանանց մայրական կաթից անջատված 44 կուլտուրաներից նախնական ուսումնասիրությունների արդյունքում առանձնացվել են Գրամ դրական, կատալազա և օքսիդազա բացասական 8 լակտոբացիլներ և 10 լակտոկոկեր, որոնց մոտ ուսումնասիրվել են պրոբիոտիկ միկրոօրգանիզմներին բնութագրող աճը հիմնային (9.2) և թթվային (pH 2.0) միջավայրերում, կայունությունը կերակրի աղի (NaCl 2.0 -6.5 %) և լեղու 20% խտությունների նկատմամբ, ինչպես նաև կուլտուրալ և ֆերմենտատիվ հատկությունները:

Լակտոբացիլների կուլտուրալ և ֆիզիոլոգիական հատկությունները ներկայացված են (աղ. 1-ում):

Աղյուսակ 1

Լակտոբացիլների աճը և կայունությունը միջավայրի տարբեր պայմաններում

ԼՐ շտամ	Աճը տարբեր -C-ում			Աճը NaCl- ում		Աճը pH- ում		20% լեղիով կաթում	Արգինի- նից NH3 առաջացում	0.1% ՄԿ կաթում
	10	45	50	2.0	6.5	2	9,2			
LH14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LH15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LH25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LH26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LH27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LH28	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
LH29	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
LH32	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-

Ինչպես երևում է աղյուսակ 1-ից, 10°C-ում աճը բացակայում է լակտոբացիլների երեք կուլտուրայի, 45°C և 50°C ջերմաստիճանների տիրույթում աճում են բոլոր կուլտուրաները բացի 1-ից, 2% NaCl-ի, pH 2 – 9.2-ի և 20% լեղիով կաթում կայուն են փորձարկված լակտոբացիլների բոլոր շտամները, ինչպես նաև արգինինից ամոնիակ առաջացնում են նույնպես բոլոր լակտոբացիլները: 0.1% մեթիլեն կապույտ պարունակող կաթում աճում է միայն մեկ կուլտուրա, իսկ լակտոբացիլների երկու կուլտուրա զգայուն են 6.5% NaCl-ի հանդեպ:

Աղյուսակ 2

Լակտոկոկերի աճը և կայունությունը միջավայրի տարբեր պայմաններում

ԼԿ շտամ	Աճը տաքեղու °C-ում			Աճը NaCl. %		Աճը pH-ում		20% լեղիով կաթում	Արգինինից NH3 առաջացում	0.1% ՄԿ կաթում
	10	45	50	2.0	6.5	2	9,2			
LH1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
LH4	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
LH8	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
LH21	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-
LH24	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
LH34	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-
LH35	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LH38	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
LH42	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
LH44	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Աղյուսակ 2-ում ներկայացված են լակտոկոկային շտամների ուսումնասիրության արդյունքները: Ինչպես երևում է ներկայացված տվյալներից, 10°C-ում աճում են բոլոր կոկերը, բացառությամբ 4-ի, 45°C-ում՝ բոլորը, բացի 1-ից, իսկ 50°C-ում աճում է միայն մեկ կոկ: Բոլոր լակտոկոկային կուլտուրաները կայուն են 2% NaCl-ի, pH 2 և pH 9.2-ի, 20% լեղու նկատմամբ: 6.5% NaCl-ի միջավայրում չեն աճում 2 կուլտուրա: Արգինինից ամոնիակ չեն առաջացնում 4 կուլտուրա: 0.1% մեթիլեն կապույտ պարունակող կաթում աճում են 3 լակտոկոկային կուլտուրա:

Անջատված ԿԹԲ-ի մեծամասնության կայունությունը լեղու, բարձր խտության կերակրի աղի և pH-ի լայն տիրույթի հանդեպ վկա-

յում է աղեստամոքսային համակարգում նրանց կենսունակության պահպանման մասին:

Պրոբիոտիկներին առաջադրվող կարևորագույն հատկանիշ է համարվում նրանց բարձր հակաբակտերիալ ակտիվությունը:

Անջատված լակտոբացիլների և լակտոկոկերի շտամների գիշերային կուլտուրաների վերնստվածքային հեղուկների հակամանրէային ակտիվությունն ուսումնասիրվել է *E. coli* O157:H7 և *C. albicans* ախտածին թեստ կուլտուրաների հանդեպ (աղյուսակ 3) :

Աղյուսակ 3

Լակտոբացիլների և լակտոկոկերի հակամանրէային ակտիվությունը

ԿԹԲ շտամներ	Վերնստվածքային հեղուկներով թեստ կուլտուրաների աճի ճնշման գոտիները, մմ	
	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
LH14, LH27, LH29	10-14	13-15
LH15, LH25, LH26, LH28, H32	15-25	16-23
<u>Լակտոկոկերի շտամներ</u>		
LH1, LH34	5-8	6-8
LH4, LH8, LH35, LH42,	9-14	8-15
LH21, LH24, LH38, LH44	14-25	16-25

Աղյուսակ 3-ից երևում է, որ 5 լակտոբացիլային և 4 կոկային կուլտուրաներ օժտված են հակաբակտերիալ բարձր ակտիվությամբ: Նրանց վերնստվածքային հեղուկները ճնշում են *E. coli* և *C. albicans* թեստ-շտամների աճը՝ առաջացնելով 14-25 մմ ճնշման գոտիներ:

Կաթում կաթնաթթվային բակտերիաների բազմացման համար անհրաժեշտ են ամինաթթուներ, որոնց աղբյուրը կաթի կազեինն է: ԿԹԲ շտամների պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ է պայմանավորված նրանց կողմից կաթի մակարդման արդյունավետությունը: Պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ օժտված շտամների առկայությունը կրծքի կաթում մանկան կողմից մայրական կաթի, ինչպես նաև հետագայում մանկական կաթնային խառնուրդների յուրացման գրավականն է: Այն իր հերթին կնպաստի կովի կաթի սպիտակուցների ալերգիկ ազդեցությունները նվազեցնելուն:

Կաթի հիմքով պատրաստած Էյկմանի միջավայրի վրա տեղադրված ԿԹԲ-ի գիշերային կուլտուրաների վերնստվածքային հեղուկներով թաթախված թղթե սկավառակների շուրջ կազեինների պրոտե-

ոլիզի արդյունքում առաջացած թափանցիկ գոտիները վկայում են նրանց պրոտեոլիտիկ ակտիվության մասին (աղ. 4):

Ինչպես երևում է աղյուսակից, մայրական կաթից անջատած կուլտուրաներն օժտված են արտահայտված պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ՝ հասնելով մինչև 25 մմ-ի:

Աղյուսակ 4

Լակտոլերի և լակտոբացիլների պրոտեոլիտիկ ակտիվությունը

Շտամներ	Թափանցիկ գոտիները, մմ
LH1, LH20, LH36	2-10
LH4, LH8, LH14, LH21, LH27, LH34, LH 35, LH42	11-20
LH15, LH24, LH25, LH26, LH32, H38, LH44	21-25

Այսպիսով, կատարված աշխատանքի արդյունքում ցույց է տրվել, որ մայրական կաթից անջատված կաթնաթթվային բակտերիաներն օժտված են բարձր հակամանրէային և պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ, իսկ նրանց կայունությունն աղի, լեղու և pH-ի ծայրահեղ արժեքների նկատմամբ ԿԹԲ-ին ապահովում է նրանց կենսունակությունն աղեստամոքսային համակարգում:

ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ
e.mail: 20mar02@mail.ru; hhov@sci.am

Լ.Վ. Դանիելյան, Հ. Գ. Հովհաննիսյան

Մայրական կաթի կաթնաթթվային բակտերիաների պրոբիոտիկ հատկությունները

Ուսումնասիրվել են մայրական կաթից անջատած կաթնաթթվային բակտերիաների կուլտուրալ, բիոքիմիական և պրոբիոտիկ հատկությունները՝ հակամանրէային ակտիվությունը և կայունությունն աղեստամոքսային համակարգի պայմաններում: Անջատված կաթնաթթվային բակտերիաների մեծամասնությունն օժտված են բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ *E. coli* O157: H7 և *C. albicans* հարուցիչների հանդեպ, կայունությամբ լեղու, աղի բարձր խտության նկատմամբ և կենսունակությամբ pH 2 - 9.2-ի տիրույթում: Որոշ կաթնաթթվային բակտերիաներ օժտված են նաև բարձր պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ, որն անհրաժեշտ է կաթի սպիտակուցների արդյունավետ

յուրացման համար: Եզրակացություն է արվել, որ մայրական կաթը պրոբիոտիկ շտամների պոտենցիալ աղբյուր է:

Л. В. Даниелян, Г. Г. Оганесян

Пробиотические свойства молочнокислых бактерий грудного молока

Определены культуральные, биохимические и пробиотические свойства выделенных из грудного молока молочнокислых бактерий, – антибактериальная активность и устойчивость к желудочно-кишечным условиям. Большинство выделенных молочнокислых бактерий обладало высокой антимикробной активностью по отношению к таким возбудителям, как *E. coli* O157: H7, *C. Albicans*, и устойчивостью к высоким концентрациям желчи и соли, и сохраняло жизнеспособность в интервале pH от 2.0 до 9.2. Некоторые лактобактерии также обладали высокой протеолитической активностью, необходимой для эффективного усваивания молочных белков. Установлено, что грудное молоко является источником потенциальных пробиотических штаммов.

L. V. Danielyan, H. G. Hovhannisyan

Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria from Human Milk

Cultural, biochemical, and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from breast milk, such as antibacterial activity and resistance to gastrointestinal conditions are defined. Most of the isolated lactic acid bacteria had high antimicrobial activity against such pathogens as *E. coli* O157: H7, *C. albicans*, and are resistant to high concentrations of bile and salt and retained viability in the pH range from 2.0 to 9.2. Some lactobacilli also had high proteolytic activity, which is necessary for effective digestion of milk proteins. Thus, it can be concluded that breast milk is a source of potential probiotic strains.

Գրականություն

1. *Bhatt V. D., Vaidya Y. H., Kunjadia P. D., Kunjadia A. P.* – Inter. Journal of pharmaceutical science and health care. 2012. V. 3. Issue 2.
2. *Fernández L., Langa S., Martín V., Maldonado A., Jiménez E., Martín R., Rodríguez J. M.* – Pharmacol. Res. 2013. V. 69 (1). P. 1-10.
3. *Martín R., Olivares M., Marín M.L., Fernández L., Xaus J., Rodríguez J. M.* – *Journal of Human Lactation*. 2005. V. 21. P. 8 –17.
4. *Heikkila M.P., Saris P.E.* – Journal of Applied Microbiology. 2003. P. 471-478.
5. *Martín R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin L.M., Xaus J., Fernandez L., Rodríguez J.M.* – The Journal of Pediatrics. 2003. V. 143. P. 754-758.
6. *Beasley S. S., Saris P. E.* – Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70(8). P. 5051–5053.
7. *Jara S., Sanchez M., Vera R., Cofre J., Castro E.* – Anaerobe. 2011. V. 17. P 474-477.

8. *Martín R., Langa S., Reviriego C., Jimenez E., Marin L.M., Olivares M., Boza J., Jimenez J., Fernandez L., Xaus J., Rodriguez J. M.* – Trends in Food Science&Technology. 2004. V. 15. P. 121-127.
9. *Лабинская А. С.* Микробиология с техникой микробиологических исследований. М. Медицина. 1978. 355 с.
10. *Vaninlgem F., Zamfir M., Adriany T., De Vuyst L.* – J. Appl. Microbiol. 2004. V. 97. P. 1257-1273.