

ՀՏԴ 579.6Մանրէաբանություն

Լիլիթ ՄԱԼԽԱՍՅԱՆ

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանի

*Մենդագիտության և կենսատեխնոլոգիաների գիտահետազոտական
ինստիտուտի*

*Կենդանական ծագման հումքի և մթերքի վերամշակման տեխնոլոգիայի բաժնի
գլխաշխատող*

E-mail: lmalkhasyan@gmail.com:

Աստղիկ ՓԵՓՈՅԱՆ

Հայաստանի ազգային ագրարային համալսարանի

*Մենդագիտության և կենսատեխնոլոգիաների գիտահետազոտական
ինստիտուտի*

*Մենդի անվտանգության և կենսատեխնոլոգիայի, Կենդանական ծագման
հումքի և մթերքի վերամշակման տեխնոլոգիայի բաժինների վարիչ, կենս. գիտ.
դոկ., պրոֆեսոր*

E-mail: apepoyan@gmail.com:

ՊՐՈԲԻՈՏԻԿ *L. plantarum* str. ZPZ-Ի

ՀԱԿԱԲԱԿՏԵՐԻԱԼ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ

ՆԵՐՀԻՎԱՆԴԱՆՈՑԱՅԻՆ *K. pneumoniae* –

ԲԱԿՏԵՐԻԱՅԻ ԱՃԻ ՎՐԱ

Աշխատելով տարածաշրջանային, ազգային և գլոբալ մակարդակներով և նպատակ ունենալով հասնել մարդու առողջության բարելավման համար օպտիմալ արդյունքների մեկ առողջություն /One Health/ մոտեցումն առաջարկում է առողջապահական բազմաթիվ խնդիրների լուծումներն իրականացնել հիմնվելով մարդկանց, կենդանիների, բույսերի և նրանց ընդհանուր միջավայրի փոխկապակցվածության վրա: *Klebsiella pneumoniae*- ն մարդու և կենդանիների մոտ 30 – 40 % -ի աղիքային միկրոֆլորայի նորմալ բնակիչն է: *Klebsiella pneumoniae*- ն կարող է նաև մարդու, բույսերի և կենդանիների ամենատարբեր հիվանդությունների, ներառյալ ներհիվանդանոցային ինֆեկցիաների պատճառ հանդիսանալ: Ներկա հետազոտության նպատակն է գնահատել պրոբիոտիկ *L. plantarum* str. ZPZ-ի հակաբակտերիալ ազդեցությունը

ներհիվանդանոցային *K. pneumoniae*- շտամի նկատմամբ: *In vitro* պայմաններում *L. plantarum* str. ZPZ-ի բակտերիաներից զերծ սուպերնատանտի ազդեցությունը *K. pneumoniae* աճի վրա գնահատվել է ագարային դիֆուզիոն և սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակի միջոցով: Հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ *L. plantarum* str. ZPZ-ի հակաբակտերիալ ազդեցությունը *K. pneumoniae*- ի նկատմամբ պայմանավորվում է բակտերիայի արտաբջջային մետաբոլիտներով: Քննարկվում է նաև *L. plantarum* str. ZPZ-ի որպես «մեկ առողջություն»- պրոբիոտիկի թեկնածությունը:

Բանալի բառեր «մեկ առողջություն» - պրոբիոտիկ, *K. pneumoniae*, բակտերիայի աճ, *L. plantarum*, արտաբջջային մետաբոլիտ:

Л. Малхасян, А. Пепоян

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИКА
LACTOBACILLUS PLANTARUM STR. ZPZ НА РОСТ
ВНУТРИБОЛЬНИЧНОГО ШТАММА KLEBSIELLA
PNEUMONIAE**

Работая на региональном, национальном и глобальном уровнях для достижения оптимальных результатов в улучшении здоровья человека, подход «Единое здоровье» направлен на решение многих проблем со здоровьем, основанных на взаимосвязи людей, животных, растений и окружающей их среды в целом. *Klebsiella pneumoniae* является нормальным обитателем кишечной микрофлоры примерно у 30-40% людей и животных. Однако *Klebsiella pneumoniae* также может вызывать множество заболеваний у людей, растений и животных.

Целью настоящего исследования было оценить антибактериальный эффект пробиотика *L. plantarum* str. ZPZ на рост внутрибольничного штамма *K. pneumoniae*.

Метод диффузии в агар использовали для оценки антибактериального действия бесклеточного супернатанта *L. plantarum* str. ZPZ на рост клеток *K. pneumoniae*.

Результаты этого исследования показывают, что антибактериальный эффект *L. plantarum* str. ZPZ на рост *K. pneumoniae* обусловлен внеклеточными метаболитами бактерии. Также обсуждается кандидатура *L. plantarum* str. ZPZ в качестве пробиотика «Единое здоровье».

Ключевые слова: Пробиотик «Единое здоровье», *K. pneumoniae*, рост бактерий, *L. plantarum*, метаболит.

L. Malkhasyan, A. Pepoyan

**ANTIBACTERIAL EFFECT OF THE PROBIOTIC
LACTOBACILLUS PLANTARUM STRAIN ZPZ ON**

THE GROWTH INTERHOSPITAL STRAIN OF KLEBSIELLA PNEUMONIAE

Working at the regional, national, and global levels to achieve optimal results in improving human health, the One Health approach is aimed to offer solutions to many health problems based on the interconnectedness of humans, animals, plants and their overall environment. Klebsiella pneumoniae is a normal habitant of the intestinal microflora in about 30-40% of humans and animals. However, Klebsiella pneumoniae can also cause a variety of diseases in humans, plants and animals.

The aim of the present study was to evaluate the antibacterial effect of the probiotic L. plantarum str. ZPZ on the growth of nosocomial K. pneumoniae strain.

The agar diffusion method was used for the evaluation of the antibacterial effect of the cell free supernatant from L. plantarum str. ZPZ on the growth of cells of K. pneumoniae.

The results of this study show that the antibacterial effect of L. plantarum str. ZPZ on the growth of K. pneumoniae is due to the extracellular metabolites of the bacterium. The candidacy of L. plantarum str. ZPZ as a "one health" probiotic is also being discussed.

Key words: "One health" probiotic, K. pneumoniae, bacterial growth, L. plantarum, metabolite.

Նախաբան

Klebsiella pneumoniae- ն *Enterobacteriaceae* -ների ամենահայտնի ներկայացուցիչներից է: Այն գրամբացասական բակտերիա է, և մարդու ու կենդանիների մոտ 30 – 40 % -ի աղիքային միկրոֆլորայի նորմալ բնակիչը: Այն սապրոֆիտ է, կարող է գտնվել հողի և ջրի մեջ, ինչպես նաև հայտնաբերվում է արդյունաբերական տարբեր թափոններ պարունակող միջավայրերում (1): *K. pneumoniae*- ն, հանդիսանալով աղիքային միկրոֆլորայի նորմալ բակտերիա, պատասխանատու է նաև ձեռքբերովի և ներհիվանդանոցային ինֆեկցիաների համար: *Klebsiella pneumoniae*- ի վարակները կարող են պատճառ հանդիսանալ թոքաբորբի և սեպսիսի, միգուղիների բորբոքումների և մենինգիտի: Վերջին տարիներին տեսակի որոշ շտամներ հանդիսանում են պլազմիդ կրող օպորտունիստիկ բակտերիաներ, կարող են լինել նաև գերվիրուլենտ բակտերիաներ՝ սպառնալիք հանդիսանալով տեր - օրգանիզմի համար (2): Գրական աղբյուրները վկայում են, օրինակ, որ կարբապենեմ-կայուն *K. pneumoniae* ինֆեկցիաները վտանգ են ներկայացնում նաև COVID-19- ով հիվանդների համար (3):

Չնայած գյուղատնտեսության ոլորտներում ևս հայտնի է *K. pneumoniae* -ի բարերար ազդեցությունը /*K. pneumoniae*- ն բարձրացնում է բերքատվությունը/,

այն կարող է ունենալ նաև վնասակար ազդեցություններ բույսերի համար (4): Օրինակ, սոյան կարևոր տնտեսական մշակաբույս է, որի վրա հաճախ բացասաբար են անդրադառնում սոյայի նեմատոդ *Heterodera glycines* դաշտային վարակները: *K. pneumoniae* –ն ներկայումս անհայտ մեխանիզմով պաշտպանում է բույսը նեմատոդի վարակներից (5): Մյուս կողմից, Չինաստանի Յունան նահանգի շրջաններում վերջին ժամանակներում հաճախակի է հանդիպում եզիպտացորենի նոր բակտերիալ հիվանդություն, որի հարուցիչը *K. pneumoniae* (KpC4) է, ինչը լավ հայտնի է որպես մարդու և կենդանիների մոտ թոքերի և միզուղիների հիվանդություններ և բույսերի համար անվնաս էնդոֆիտ բակտերիա (6):

Ներկա հետազոտության նպատակն է հանդիսացել պրոբիոտիկ *L. plantarum* ZPZ-ի՝ ներհիվանդանոցային *Klebsiella pneumoniae*- շտամի նկատմամբ հակաբակտերիալ ազդեցության գնահատումը:

Նյութը և մեթոդները

Հետազոտության համար օբյեկտ են հանդիսացել *K. pneumoniae* բազմակայուն շտամը՝ մեկուսացված Երևանի հիվանդանոցներից և այդ շտամի նկատմամբ հակաբակտերիալ ակտիվությամբ օժտված *L. plantarum* ZPZ պրոբիոտիկային շտամը՝ մեկուսացված կրծքով կերակրվող առողջ երեխայից (7):

Ազարային դիֆուզիոն մեթոդն (8, 9) ու Roth –ի կողմից առաջարկված բանաձևն (10) է օգտագործվել *in vitro* պայմաններում *L. plantarum* ZPZ-ի բակտերիաներից զերծ սուպերնատանտի ազդեցությունը *K. pneumoniae* աճի վրա գնահատելու համար:

Արդյունքներ և վերլուծություն

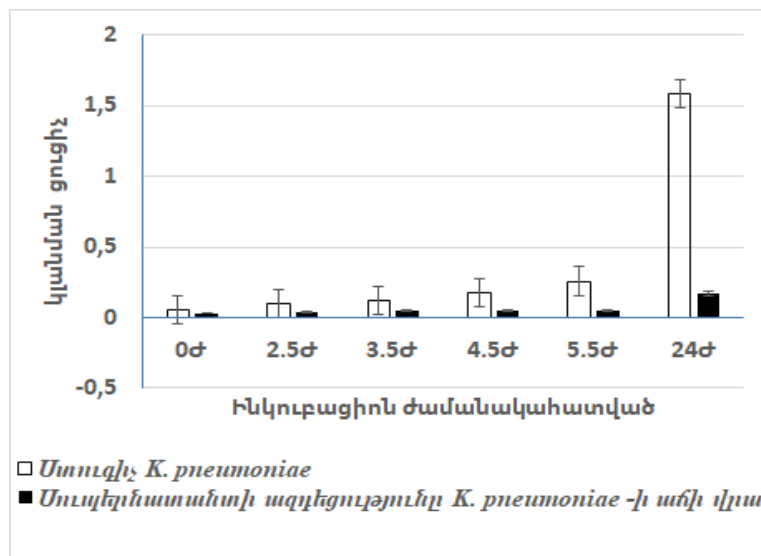
Աղյուսակ 1- ում ներկայացվում է *L. plantarum* ZPZ-ի գենոմի բնութագիրը, համաձայն որի՝ բակտերիայի գենոմում GC պարունակությունը 44.4 % է: Շտամն ունակ է արտադրել ռիբոֆլավին (վիտամին B2), բիոտին (վիտամին B8 կամ վիտամին BH), ֆոլաթթու (ֆոլաթթու, ֆոլացին և վիտամին B9) և պիրիդոքսին (վիտամին B6): Բացի այդ, *L. plantarum* ZPZ-ն պարունակում է թիամինի (վիտամին B1) արտադրության մեջ և 5-ֆորմիլտետրահիդրոֆոլատ ցիկլոլիզազանման սպիտակուցի (5-FCL- ի նման սպիտակուց) արտադրության համար պատասխանատու գեներ (11): Շտամի այս հատկությունները կարևոր են ինչպես սննդագիտության տեսանկյունից՝ առողջապահական ոլորտում ֆունկցիոնալ պրոբիոտիկների արտադրման համար, այնպես էլ գյուղատնտեսության տեսանկյունից՝ այս ոլորտում ֆունկցիոնալ պրոբիոտիկների օգտագործման համար:

Աղյուսակ 1. *L. plantarum* ZPZ-ի գենոմի բնութագրերը*

Կոնտիգենների քանակը	Ծածկայթը	Ամենամեծ կոնտիգը, հիմքերը	Գենոմի հավաքման չափը, հիմքեր	Գենոմի հավաքման չափը, Mb	GC պարուն ակույթ ուն, %	Գենոմի տիպիկ չափը
70	91.7x	365,046	3,311,088	3.04-3.64	44.4	44.3-44.8
*(11)						

In vitro պայմաններում *L. plantarum* ZPZ-ի բակտերիաներից գերծ սուպերնատանտի ազդեցությունը *K. pneumoniae* աճի գնահատմանը վերաբերող ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին, որ անկախ *K. pneumoniae*-ի աճման միջավայրի pH- ի փոփոխություններից, պրոբիոտիկ *L. plantarum* ZPZ-ի բակտերիազերծ կուլտուրալ հեղուկը, կախված քանակություններից, կարող է զգալիորեն նվազեցնել *K. pneumoniae*- ի կենսունակությունը /նկար 1/:

One Health /մեկ առողջություն/ հայեցակարգը դիտարկում է մարդկանց և նրանց շրջակա միջավայրի փոխազդեցությունը *հող – բույս – կենդանի - մարդ* փոխկապակցվածությունների պայմաններում, որտեղ հսկայական դեր է տրվում էկոհամակարգերի միջև մանրէների փոխազդեցություններին: Պրոբիոտիկները կենդանի մանրէներ են, որոնց համապատասխան չափաբաժինները օգտակար են տեր օրգանիզմի (12, 13)՝ մարդու (14), կենդանու (15), բույսի (16) համար: Մասնավորապես, հայտնի է, որ *L. plantarum* պրոբիոտիկային շտամները կարող են հաջողությամբ օգտագործվել որպես մարդու, բույսի, կենդանիների, նաև արտադրական գործընթացների /օր. պահածոների արտադրություն/ «բարելավիչներ»:



Նկար 1. Պրոբիոտիկ *L. plantarum* ZPZ-ի բակտերիազերծ սուպերնատանտի ազդեցությունը *K. pneumoniae*-ի աճի վրա:

Եզրակացություն

Այս հետազոտության արդյունքները վկայում են, որ *L. plantarum* ZPZ-ի (Pepoyan et al., 2018) հակաբակտերիալ ազդեցությունը *K. pneumoniae*-ի նկատմամբ պայմանավորվում է բակտերիայի արտաբջջային մետաբոլիտներով:

Քննարկվում է նաև մանրէի թեկնածությունը՝ որպես «մեկ առողջություն»-պրոբիոտիկի:

Գրականություն

1. Bagley, S.T.; Seidler, R. (1977). Significance of fecal coliform positive Klebsiella. Appl Environ Microbiol, 33:1141–1148.
2. Joseph, L.; Merciecca, T.; Forestier, C.; Balestrino, D. et al. (2021). From Klebsiella pneumoniae colonization to dissemination: an overview of studies implementing murine models. Microorganisms. 12;9(6):1282. doi:10.3390/microorganisms9061282
3. Montrucchio, G.; Corcione, S.; Sales, G.; Curtoni, A. et al. (2020). Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae in ICU-admitted COVID-19 patients: Keep an eye on the ball. Journal of global antimicrobial resistance, 23, 398–400. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.11.004
4. Sanikhani, R.; Moeinirad, M.; Solgi, H.; et al. (2021). The face of hypervirulent Klebsiella pneumoniae isolated from clinical samples of two Iranian teaching hospitals. Annals of clinical microbiology and antimicrobials. 20(1):58. doi:10.1186/s12941-021-00467-2
5. Liu, D.; Chen, L.; Zhu, X. et al. (2018). Klebsiella pneumoniae SnebYK Mediates Resistance Against Heterodera glycines and Promotes Soybean Growth. Front Microbiol. 1;9:1134. doi:10.3389/fmicb.2018.01134
6. Huang, M., Lin, L.; Yi-xin, W. et al. (2016). Pathogenicity of Klebsiella pneumonia (KpC4) infecting maize and mice. Journal of Integrative Agriculture. 15:1510-1520. doi:10.1016/S2095-3119(16)61334-5
7. Pepoyan, A.; Balayan, M.; Manvelyan, A.; Pepoyan, S. et al. (2018) Radioprotective effects of lactobacilli with antagonistic activities against human pathogens. Biophys J 114:665a. doi:10.1016/j.bpj.2017.11.3586
8. Balayan, M.; Manvelyan A. et al. (2019b). Combined use of eBeam irradiation and the potential probiotic Lactobacillus

rhamnosus Vahe for control of foodborne pathogen *Klebsiella pneumoniae*. *Annals of Microbiology*. 69(3). doi:10.1007/s13213-019-01522-2

9. Pepoyan, A.; Manvelyan, A.; Balayan, M. et al. (2019a) Low dose electron beam irradiation for the improvement of biofilm formation by probiotic lactobacilli. *Probiotics Antimicrob Proteins*. doi:10.1007/s12602-019-09566-1.

10. Roth, V. (2006). Doubling Time Computing, Available from: <http://www.doubling-time.com/compute.php>

11. Pepoyan, A.; Manvelyan, A.M.; Balayan M.H. et al. (2020) The effectiveness of potential probiotics *Lactobacillus rhamnosus* Vahe and *Lactobacillus delbrueckii* IAH4HI in irradiated rats depends on the nutritional stage of the host. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. doi:10.1007/s12602-020-09662-7

12. Reid, G.; Bruce, A.W. (2006). Probiotics to prevent urinary tract infections: the rationale and evidence. *World J Urol*. 24(1):28-32. doi:10.1007/s00345-005-0043-1

13. Pepoyan, A.; Trchounian, A. (2009) Biophysics, molecular and cellular biology of probiotic activity of bacteria. In: A Trchounian (ed) *Bacterial Membranes*, Kerala, India, pp 275-287.

14. Pepoyan, A.Z.; Pepoyan, E.S.; Galstyan, L. et al. (2021). The effect of immunobiotic/psychobiotic *Lactobacillus acidophilus* strain INMIA 9602 Er 317/402 Narine on gut *Prevotella* in familial Mediterranean Fever: gender-associated effects. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 13, 1306–1315. doi:10.1007/s12602-021-09779-3

15. Pepoyan, A.; Tsaturyan, V.; Badalyan, M.; Weeks, R., et al. (2020b) Blood protein polymorphisms and the gut bacteria: impact of probiotic *Lactobacillus acidophilus* Narine on *Salmonella* carriage in sheep. *Benef Microbes* 11:183-189. doi:10.3920/BM2019.0138

16. Rahman, M.; Sabir, A.A.; Mukta, J.A. et al. (2018). Plant probiotic bacteria *Bacillus* and *Paraburkholderia* improve growth, yield and content of antioxidants in strawberry fruit. *Sci Rep* 8, 2504. doi:10.1038/s41598-018-20235-1

Հոդվածը տպագրության է երաշխավորել խմբագրական
խորհրդի անդամ, կ.գ.դ., Շ.Գ.Գալստյանը:

Ը: