

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ნათია თამარაშვილი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი
ბიოლოგიის დეპარტამენტი, მიმართულება: მიკრობიოლოგია

საკვები პროდუქტებიდან გამოყოფილი სალმონელის და
მათი ბიოლოგიური კონტროლის გზების შესწავლა

ს ა დ ო ქ ტ ო რ ო დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა დოქტორი
პროფ. ტარასი გაბისონია

ბიოლოგიურ მეცნიერებათა კანდიდატი
მანანა ლოლაძე

თბილისი 2017

Ivane Javakishvili Tbilisi State University

Natia Tamarashvili

Faculty of Exact and Natural Sciences
Department of Biology, Module: Microbiology

**Study of the Salmonella Isolated from Food
and Their Control Measures**

*This Dissertation is submitted in accordance with the requirements for the degree of
Doctor of Philosophy in Biology*

Research Directors: Tarasi Gabisonia, MD
Manana Loladze, PhD

Tbilisi 2017

ანოტაცია

სალმონელათი გამოწვეული ნაწლავური ინფექციები წარმოადგენს გლობალურ პრობლემას როგორც ადამიანის, ასევე ცხოველისათვის და მიეკუთვნება ყველაზე მნიშვნელოვან ნაწლავური ინფექციების გამომწვევ ბაქტერიულ ეტიოლოგიას, რომელიც დაკავშირებულია უკანასკნელ წლებში მსოფლიო მასშტაბით მომხდარ მასიურ, ინფექციურ „აფეთქებებთან“.

ცხოველური საკვები წარმოადგენს ადამიანის არატიფოიდური სალმონელას ინფექციების ძირითად რეზერვუარს. განსაკუთრებულ შემოთვლას იწვევს ანტიმიკრობული აგენტების მიმართ სალმონელას რეზისტენტული შტამების გამოვლენის მკვეთრი ზრდა. მრავალ შემთხვევაში, ბაქტერიები, რომლებიც აინფიცირებენ ადამიანს, პირდაპირ არიან დაკავშირებული ცხოველებში არსებულ რეზისტენტულ მიკროორგანიზმებთან. ასეთი პათოგენების არსებობა პრობლემას წარმოადგენს არა მხოლოდ ცხოველების ჯანმრთელობისათვის, არამედ საკვების საშუალებით ცხოველიდან ადამიანზე ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტული ბაქტერიების გადაცემის შესაძლებლობის გამო. აღიშნული მიზეზების არსებობიდან გამომდინარე, ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების მოძებნა წარმოადგენს თანამედროვე მედიცინის და ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთ უმთავრეს პრიორიტეტს. ერთ-ერთი ასეთი ალტერნატიული ანტიბაქტერიული საშუალება შესაძლებელია იყოს ბაქტერიოფაგები, რომლებიც ითვლება ინფექციების აღმძვრელი, ანტიმიკრობული აგენტების მიმართ რეზისტენტული პათოგენების მიერ გამოწვეული კონტამინაციის სავარაუდო ალტერნატიული ბიოკონტროლის საშუალებად, აგრეთვე ბაქტერიოფაგები გამოიყენება სამკურნალო-პროფილაქტიკური თვალსაზრისითაც.

წარმოდგენილი კვლევის ძირითადი მიზანი იყო ბაქტერიოფაგების საფუძველზე ეფექტური პრეპარატის შექმნა, რომლის გამოყენებაც შესაძლებელი იქნება საკვების წარმოების სრულ ჯაჭვში “ფერმიდან მაგიდამდე” საკვებისმიერი პათოგენების გავრცელების საწინააღმდეგოდ.

ჩვენს მიერ ჩატარებულმა ექსპერიმენტებმა ნათლად წარმოაჩინა ბაქტერიოფაგების შემცველი აეროზოლის გამოყენების ეფექტურობა *Salmonella*-ს უჯრედებით დასნებოვნებული სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციისათვის და ფაგების გამოყენების პერსპექტივა ბიოფილმების წინააღმდეგ ბრძოლაში.

Abstract

Enteric *Salmonella* infection is a global problem both in human and animals, and has been attributed to be the most important bacterial etiology for enteric infections worldwide with massive outbreaks occurring in recent years.

Food animals are the primary reservoir for human non-typhoid *Salmonella* infections. The continuing emergence of *Salmonella* strains that are resistant to antimicrobials is also a cause of increasing concern. In many cases multiresistant bacteria infecting humans have been directly linked to resistant organisms in animals. Existence of such pathogens is problematic because of possible transmission of antibiotic resistant bacteria from animals to humans through the food supply. The development of alternative anti-microbial remedies has become one of the highest priorities of modern medicine and biotechnology. One of such alternatives might be bacteriophages as a prospective biocontrol method against contaminations caused by antimicrobial resistant pathogens.

The aim of this study was the creation of bacteriophage-based product that can be used to control pathogens in food at all stages of production in the classic “Farm-to-table” continuum in the human food chain.

The results of our experiments illustrated unambiguous evidence of the efficacy of the microaerosol composed of bacteriophage for decontamination of high load of *Salmonella* cells on different surfaces and the prospect of using phages against biofilms.

სარჩევი

შესავალი	8
თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა	
1.1. საკვებისმიერი დაავადებები და მათი გამომწვევი მიკროორგანიზმები	10
1.2. სალმონელა როგორც საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმი	16
1.3. სალმონელოზის აღმძვრელების ანტიბიოტიკორეზისტენტობა	26
1.4. ბიოფილმების წარმოქმნა	31
1.5. ბაქტერიოფაგების გამოყენება	36
თავი II. გამოკვლევის მასალა და მეთოდები	
2.1. სალმონელას შტამების გამოყოფა და შესწავლა	46
2.1.1. ნიმუშების აღება	46
2.1.2. სალმონელას შტამების ბიოქიმიური შესწავლა	47
2.2. ანტიმიკრობული რეზისტენტობის დადგენა	47
2.2.1. დისკების მეთოდი	47
2.2.2. სერიული განზავების მეთოდი	48
2.3. პულსირებად ველში გელ ელექტროფორეზი	48
2.4. სალმონელას ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და შესწავლა	49
2.4.1. ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და ტიტრის დადგენა	49
2.4.1.1. ბაქტერიოფაგების ტიტრის დადგენა თხიერ საკვებ არეში - აპელმანის მეთოდი	49
2.4.1.2. ბაქტერიოფაგების ტიტრის დადგენა მყარ საკვებ არეზე - ორშრიანი აგარის მეთოდი	49
2.4.2. ფაგების მასპინძელი უჯრედების სპექტრი და ეფექტური ფაგების შერჩევა	50
2.4.3. ბაქტერიოფაგების გამრავლება	50
2.4.4. ბაქტერიოფაგების დახასიათება	50
2.4.4.1. ელექტრონული მიკროსკოპია	50
2.4.4.2. ფაგის ადსორბცია და გამრავლების ერთჯერადი ციკლი	50
2.4.4.3. ფაგის ლატენტური პერიოდი და გამოსავლიანობა	51
2.4.4.4. ფაგების თერმო და pH სტაბილურობა	51
2.4.4.5. ოსმოსური შოკის გავლენა ბაქტერიოფაგებზე	51
2.4.5. ფაგის გენომის დახასიათება	52
2.4.5.1. ბაქტერიოფაგის დნმ-ის გამოყოფა	52
2.4.5.2. ფაგის დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზი	52
2.5. სალმონელების ბიოლოგიური კონტროლის მეთოდები	53
2.5.1. ფაგის ეფექტურობის განსაზღვრა ექსპერიმენტულად მიკროაეროზოლის გამოყენებით	53
2.5.1.1. კუპონები	53
2.5.1.2. კუპონების მომზადება	53
2.5.1.3. ფაგის სუსპენზია	53
2.5.1.4. აეროზოლის გენერაცია	53
2.5.1.5. ექსპერიმენტული კამერა	53

2.5.1.6. ექსპერიმენტის მიმდინარეობა	54
2.5.1.6.1. <i>S. typhimurium</i> -ის ზრდა და უჯრედების სუსპენზიის მომზადება კუპონებზე ინოკულაციისთვის	54
2.5.1.6.2. კუპონების მომზადება და დამუშავება	54
2.5.1.6.3. ცდის დასაწყისში (ნულოვანი დრო) გადარჩენილი ბაქტერიული უჯრედების რიცხვის დასადგენი ჯგუფი (კონტროლი 1)	55
2.5.1.6.4. ექსპერიმენტის ხანგრძლივობის დროს კუპონებზე დატანილი გამშრალი ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა (კონტროლი 2)	55
2.5.1.6.5. ფაგის შემცველი აეროზოლის მოქმედების შემდეგ ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა	56
2.5.1.6.6. ფაგის არ შემცველი აეროზოლის მოქმედების შემდეგ ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა	56
2.5.1.6.7. კუპონების ნაცვლად მყარი საკვები ნიადაგის შემცველი ფინჯნების ინოკულაცია ბაქტერიული უჯრედებით	57
2.5.1.7. ექსპერიმენტის პირობები	57
2.5.2. ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე ბაქტერიოფაგების მოქმედების ეფექტურობის განსაზღვრა	57
2.5.2.1. ბიოფილმების წარმოქმნა	57
2.5.2.2. ბაქტერიოფაგების მოქმედება	58
თავი III. საკუთარი გამოკვლევის შედეგები	
3.1. საკვები პროდუქტებიდან სალმონელას შტამების გამოყოფა და შესწავლა	59
3.1.2. გამოყოფილი სალმონელას კულტურების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძობელობის შესწავლა	64
3.1.3. სალმონელას კულტურების მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	68
3.1.3.1. ლაბორატორიის კოლექციის <i>S. typhimurium</i> -ის შტამების დნმ-ის მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	68
3.1.3.2. ახლად გამოყოფილი <i>S. typhimurium</i> -ის შტამების დნმ-ის მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით	69
3.2. სალმონელას შტამების მიმართ ეფექტური ბაქტერიოფაგების სელექცია, გამოყოფა და შესწავლა	70
3.2.1. ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული ბაქტერიოფაგების სელექცია	70
3.2.2. ლაბორატორიის კოლექციიდან შერჩეული ბაქტერიოფაგების დახასიათება	71
3.2.2.1. ლაბორატორიის კოლექციიდან შერჩეული ბაქტერიოფაგების მორფოლოგია	71
3.2.2.2. შერჩეული ბაქტერიოფაგების დნმ-ის რესტრიქციული პროფილების შესწავლა	73
3.2.3. ახალი ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და ეფექტური ფაგების შერჩევა	74
3.2.4. ახლად გამოყოფილი ბაქტერიოფაგებიდან შერჩეული სალმონელას	75

ფაგების დახასიათება	
3.2.4.1. ახლად გამოყოფილი სალმონელას ფაგების მორფოლოგიური დახასიათება	75
3.2.4.2. ახლად გამოყოფილი <i>Salmonella</i> -ს ფაგების ლიზისური სპექტრის განსაზღვრა	76
3.2.4.3. შერჩეული ახლად გამოყოფილი ფაგების რესტრიქციული ანალიზი	76
3.2.5. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობის განსაზღვრა კანდიდატი ბაქტერიოფაგების შერჩევის მიზნით	78
3.2.6. ფაგური კოქტეილის შესაქმნელად შერჩეული ფაგების თვისებების შესწავლა	80
3.2.6.1. ფაგის ზრდის თვისებების შესწავლა	80
3.2.6.1.1. ფაგების ინფექციის მრავლობითობის ოპტიმალური მაჩვენებლის შესწავლა	80
3.2.6.1.2. ფაგის ადსორბციის სიჩქარე და გამრავლების ერთჯერადი ციკლის შესწავლა	80
3.2.6.2. შერჩეული სალმონელას ფაგების თერმო და pH სტაბილურობა	82
3.2.6.3. ოსმოსური შოკის გავლენა ბაქტერიოფაგებზე	83
3.2.6.4. სალმონელას ფაგების ეფექტურობა სალმონელას სხვა სეროტიპების მიმართ	84
3.2.6.5. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა სხვადასხვა გრამ-დადებითი და გრამ-უარყოფითი პათოგენების მიმართ	85
3.2.6.6. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ნორმალური ფლორის მიმართ	87
3.2.7. ფაგის კოქტეილის მაღალი ეფექტურობის ფორმულირება და <i>Salmonella</i> -ს გვარის ფართო სპეციფიკურობა	88
3.3. სალმონელების ბიოლოგიური კონტროლის გზები	89
3.3.1. აეროზოლის სახით ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობა სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციისათვის	89
3.3.2. ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე ბაქტერიოფაგების მოქმედების შესწავლა	94
თავი IV. შედეგების განხილვა	98
თავი V. დასკვნები	106
გამოყენებული ლიტერატურა	107

შესავალი

საკვები პროდუქტების უსაფრთხოება და პროდუქტების ხარისხიანობა წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრობლემას მთელ მსოფლიოში. საკვებისმიერი დაავადებები, გამოწვეული მიკროორგანიზმების, ბიოტოქსინებისა თუ ქიმიური დამბინძურებლების მიერ, წარმოადგენს სერიოზულ საფრთხეს მილიონობით ადამიანისათვის. ყოველწლიურად ფიქსირდება საკვებისმიერი ინფექციების (ინტოქსიკაციები) აფეთქების შემთხვევები, რომლებიც სულ უფრო და უფრო მზარდ ხასიათს იძენს. საკვებისმიერი დაავადებები გავლენას ახდენენ არა მხოლოდ ადამიანის ჯანმრთელობაზე, არამედ იწვევენ მნიშვნელოვან ეკონომიკურ და სოციალურ ზარალს.

საკვები პროდუქტების წარმოების ზრდასთან და გლობალიზაციასთან ერთად იზრდება საკვებისმიერი დაავადებების გავრცელების რისკები. მათი გავრცელების ხარისხის საყოველთაო განსაზღვრა ძნელია, მაგრამ ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, ყოველწლიურად მილიონობით ადამიანი იღუპება დიარეული დაავადებებისგან. აშშ-ში ყოველწლიურად ფიქსირდება საკვებისმიერი დაავადებების 48 მილიონი შემთხვევა, აქედან 325 000 საჭიროებს ჰოსპიტალიზაციას, ხოლო 5000 მთავრდება ფატალური შედეგით. აღნიშნული შემთხვევების მხოლოდ 9.4 მლნ (20%) არის გამოწვეული დადგენილი პათოგენური აგენტის მიერ. დანარჩენ შემთხვევებში გამომწვევი აგენტი უცნობია [Scallan E, et. al. 2011].

ინფექციურ დაავადებათა წარმოქმნის დიდი ნაწილი დაკავშირებულია სასმელი წყლის და საკვების კონტამინაციასთან, რომლებიც ინფიცირდება პათოგენური ბაქტერიებით.

დაავადებების გავრცელება და ადამიანების ინფიცირება ხდება აგრეთვე დაავადებულ ცხოველებთან პირდაპირი კონტაქტით, დაბინძურებული წყლით და ბაქტერიებით კონტამინირებული საკვები პროდუქტების მოხმარებით.

ბოლო ათწლეულის განმავლობაში, განსაკუთრებით გაიზარდა საკვებისმიერი დაავადებების შემთხვევები, რაც გამოწვეულია დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების ახალი, ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების გამოვლენით. ევროპის მასშტაბით ჩატარებული კვლევის შედეგად, დაავადების გამომწვევებს შორის *Salmonella* კვლავ რჩება პირველ ადგილზე 77.1%, შემდეგ მოდის *Staphylococcus aureus* (4%), *Shigella* (3%), *Clostridia perfringers* (2%), *Campylobacter* (1%), ვირუსები (1%) და სხვა (12%) [FAO/WHO, 2012].

განსაკუთრებულ შემოფოთებას იწვევს ანტიბაქტერიული საშუალებების მიმართ რეზისტენტული შტამების წარმოქმნის მზარდი ტენდენცია. როგორც ცნობილია, ანტიბიოტიკების აღმოჩენიდან ხდება მათი გამოყენება როგორც დაავადების სამკურნალოდ, ასევე პროფილაქტიკისათვის. ანტიბიოტიკების ფართო და ხშირად არარაციონალური გამოყენება იწვევს ანტიბიოტიკების მიმართ ბუნებრივი და შექმნილი რეზისტენტობის მქონე პათოგენების გავრცელებას. ხშირად ადამიანებში დაავადების გამომწვევი პოლირეზისტენტული შტამები პირდაპირ კავშირში არიან ცხოველებში ცირკულირებად შტამებთან. ამგვარი პათოგენების არსებობა პრობლემატურია არა მხოლოდ ცხოველების ჯანმრთელობის თვალსაზრისით, არამედ მათი, როგორც საკვებით გამოწვეული პათოგენების შესაძლო ტრანსმისიის შესაძლებლობის გამო ადამიანებში. ამკარა მაგალითია მრავლობით რეზისტენტული

სალმონელას ფაგოტიპ *Salmonella typhimurium* DT104-ის ფართო გავრცელება. ეს მიკრობი რეზისტენტულია ხუთი ხშირად გამოყენებადი ანტიბიოტიკების მიმართ.

საკვებისმიერი დაავადებების თავიდან აცილების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი საშუალებაა მიკრობებით კონტამინაციის რისკის დროული აღმოჩენა და შემცირება.

საკვებისმიერი დაავადებების შესწავლა საჭიროებს ინფექციის წყაროს გამოვლინებას, რაც თავის მხრივ გულისხმობს დაავადების გამომწვევი პათოგენური მიკროორგანიზმების შტამებისა და სუბტიპების დადგენას. შტამების დიფერენცირება აუცილებელია დაინფიცირების წყაროსა და პათოგენის გადაცემის გზების დასადგენად. ეს უკანასკნელი კი საშუალებას იძლევა უფრო ზუსტად განისაზღვროს ინფექციის აფეთქებები და ლიმიტირებულ იქნას ამ პათოგენებით გამოწვეული ინფექციების გავრცელება.

მნიშვნელოვანი მარკერია აგრეთვე მიკრობთა ანტიბაქტერიულ საშუალებათა მიმართ მგრძობელობა ანტიბიოტიკების მიმართ შტამების სპეციფიკური რეზისტენტობის გამო. გამოყოფილი შტამების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძობელობის განსაზღვრა მნიშვნელოვანია მულტირეზისტენტული მიკრობების გავრცელების მზარდი საფრთხის გამო, რაც საფრთხეს უქმნის ადამიანის ჯანმრთელობას.

ბაქტერიების ანტიმიკრობული საშუალებების მიმართ მკვეთრად მზარდი რეზისტენტობის ფონზე ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების შექმნა წარმოადგენს განსაკუთრებულ პრიორიტეტს თანამედროვე მედიცინასა და ბიოტექნოლოგიაში. ფაგების გამოყენებამ პათოგენური მიკროორგანიზმების წინააღმდეგ საკვებ პროდუქტებსა და წყალში, მედიცინასა და ვეტერინარიაში გამოავლინა მაღალი ეფექტურობა, სპეციფიკურობა და მაღალი რენტაბელობა.

კვლევის მიზანი და ამოცანები

ნაშრომი შესრულებულია გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის გამოყენებითი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიაში.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საკვებ პროდუქტებში გავრცელებული სალმონელების საწინააღმდეგო ბაქტერიოფაგების შემცველი ეფექტური კოქტეილის შექმნა და ბაქტერიოფაგის გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა დეკონტამინაციისთვის.

კვლევის მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. საკვები პროდუქტებიდან სალმონელას კულტურების გამოყოფა და მათი მოლეკულურ-ბიოლოგიური შესწავლა;
2. საკვებისმიერი სალმონელების საწინააღმდეგო ბაქტერიოფაგების გამოყოფა, შესწავლა და ეფექტური ფაგური კოქტეილის შექმნა;
3. სალმონელას საწინააღმდეგო ფაგის შემცველი მიკრო აეროზოლის გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა დეკონტამინაციისთვის;
4. ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა ბიოფილმების წინააღმდეგ.

თავი I

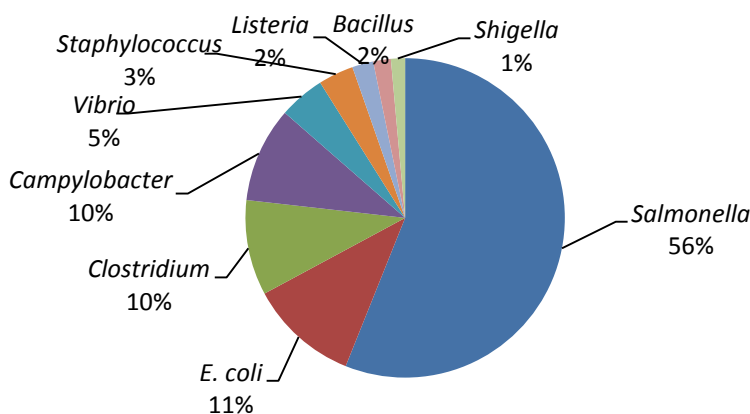
ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 საკვებისმიერი დაავადებები და მათი გამომწვევი მიკროორგანიზმები

საკვებისმიერი ინფექციური დაავადებები წარმოადგენს ჯანმრთელობის დაცვის აქტუალურ და მზარდ პრობლემას მთელ მსოფლიოში. საკვებისმიერი ინფექციები არის ერთ-ერთი ყველაზე სწრაფად გავრცელებადი დაავადებათა ჯგუფი და გავლენას ახდენენ როგორც ადამიანების ჯანმრთელობაზე, ასევე იწვევენ მნიშვნელოვან ეკონომიკურ და სოციალურ ზარალს. საკვებისმიერი დაავადებები თავისი ბუნებით არიან ინფექციური და ტოქსიკური, გამოწვეული ბაქტერიებით, ვირუსებით, პარაზიტებით და ქიმიური ნაერთებით, რომლებიც ორგანიზმში ხვდებიან დაბინძურებული საკვებისა და წყლის მიღების შედეგად [DuPont, 2007].

საკვებისმიერი დაავადებების გავრცელების, სიმძიმის და მისი შედეგების ზუსტი განსაზღვრა რთულია, რადგანაც მათი სრული აღრიცხვა ვერ ხერხდება და აგრეთვე დიდ სირთულეს წარმოადგენს მიზეზობრივი კავშირის დადგენა საკვების დაბინძურებასა და გამოწვეულ ავადმყოფობას ან სიკვდილიანობას შორის [WHO, 2015].

მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის 2015 წლის მონაცემებით დადგენილია 31 საკვებისმიერი დაავადების გამომწვევი აგენტი (ბაქტერიები, ვირუსები, პარაზიტები, ტოქსინები და ქიმიკატები), რომლებიც ყოველწლიურად იწვევენ დაახლოებით 600 მლნ. საკვებისმიერი დაავადების შემთხვევას (ყოველი მე-10 ადამიანი მსოფლიოში), მათ შორის 420 000 მთავრდება სიკვდილით. ამ შემთხვევების 40% მოდის ბავშვებზე 5 წლის ქვემოთ. საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევ აგენტებს შორის წამყვანი ადგილი უკავიათ, სიხშირის თვალსაზრისით, კამპილობაქტერიებს და ნოროვირუსებს, ხოლო სიკვდილიანობის თვალსაზრისით, არატიფოიდურ სალმონელას [WHO, 2015].



სურ 1. საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი აგენტები (CDC 2013)

რთულია მიკრობიოლოგიური საკვებისმიერი დაავადებების შემთხვევების ზუსტი განსაზღვრა. აშშ-ში, რომელსაც საკვები პროდუქტებით მომარაგების ერთ-ერთი ყველაზე უსაფრთხო სისტემა აქვს, ყოველწლიურად ფიქსირდება საკვებისმიერი დაავადებების 48 მილიონი შემთხვევა, აქედან 325 000 საჭიროებს ჰოსპიტალიზაციას, ხოლო 5000 მთავრდება ფატალური შედეგით. აღნიშნული შემთხვევების მხოლოდ 9.4 მლნ (20%) არის გამოწვეული დადგენილი პათოგენური აგენტის მიერ. დანარჩენ შემთხვევებში გამომწვევი აგენტი უცნობია [Scallan E, et. al. 2011].

წყლის და საკვებისმიერი დაავადებები წამყვან ადგილს იკავებენ დაავადებებსა და სიკვდილიანობაში ნაკლებად განვითარებულ ქვეყნებში, რის შედეგადაც დაახლოებით 2.1 მლნ ადამიანი იღუპება ყოველწლიურად, მათ შორის უმეტესად ბავშვები [WHO, 2015]. აღსანიშნავია, რომ საკვებისმიერი დაავადებების მზარდი ეპიდემიების და მოწამვლის რისკები ძალზე მაღალია განვითარებულ ქვეყნებშიც. ევროპის სურსათის უვნებლობის სააგენტო (EFSA) მოითხოვს სურსათის უვნებლობის წესების გამკაცრებას და სურსათის უვნებლობაზე ტესტირების ჩატარებას წარმოების მთელ ეტაპზე, რათა უზრუნველყოფილი იქნას საკვების დამაბინძურებლების მინიმუმადე დაყვანა და აღიკვეთოს ჯანმრთელობისათვის საშიში ნებისმიერი პოტენციური დამაბინძურებლის მოხვედრა მომხმარებლის საკვებში.

უკანასკნელი ათწლეულის განმავლობაში საკვებისმიერი დაავადებების რამდენიმე სერიოზული აფეთქება მოხდა თითქმის ყველა კონტინენტზე. 2012 წელს აშშ-ში 831 საკვებისმიერი დაავადების აფეთქება დაფიქსირდა. 14 972 დაავადდა, აქედან 794-ს გაეწია ჰოსპიტალიზაცია, ხოლო 23 გარდაიცვალა. 2013 წელს დაფიქსირდა 818 საკვებისმიერი დაავადების აფეთქება, 13 360 დაავადდა, 1062 ჰოსპიტალიზაცია, 16 ფატალური შედეგი. 239 აფეთქება (54%) გამოწვეული იყო ბაქტერიული აგენტით, 160 (36%) - ვირუსული, 33.8% - ქიმიური, ხოლო 7.2% - პარაზიტული. ბაქტერიული აგენტებიდან სალმონელა იყო პირველ ადგილზე დადგენილი ეტიოლოგიით გამოწვეული აფეთქებების 149 (34%) და ჰოსპიტალიზაციის 623 (65%) რიცხვით [CDC, 2013].

ცხრილი 1

საკვებისმიერი დაავადებების აფეთქებები, აფეთქებებთან დაკავშირებული დაავადებები და ჰოსპიტალიზაციის ეტიოლოგიის მიხედვით (CDC, 2013)

ეტიოლოგია	აფეთქებების რ-ბა				დაავადებების რ-ბა				ჰოსპიტალიზაციის რ-ბა			
	დშ	სშ	სულ	%	დშ	სშ	სულ	%	დშ	სშ	სულ	%
<i>Salmonella</i>	149	8	157	26	3553	40	3593	32	623	5	628	62
<i>Escherichia coli</i> , Shiga toxin-producing (STEC)	29	2	31	5	409	23	432	4	137	7	144	14
<i>Clostridium perfringens</i>	12	15	27	4	361	240	601	5	2	1	3	0
<i>Campylobacter</i>	20	7	27	4	266	21	287	3	17	5	22	2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	9	4	13	2	57	23	80	1	4	1	5	0
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxin	6	4	10	2	221	42	263	2	25	2	27	3
<i>Listeria monocytogenes</i>	6	0	6	1	34	0	34	0	30	0	30	3
<i>Bacillus cereus</i>	2	3	5	1	9	16	25	0	0	1	1	0
<i>Shigella</i>	3	1	4	1	27	4	31	0	4	0	4	0

<i>Vibrio cholerae</i>	1	1	2	0	3	2	5	0	3	1	4	0
<i>Staphylococcus spp</i>	1	1	2	0	33	5	38	0	0	0	0	0
<i>Clostridium botulinum</i>	0	1	1	0	0	4	4	0	0	4	4	0
<i>Escherichi coli, Enterοaggregative</i>	1	0	1	0	34	0	34	0	0	0	0	0
სხვა	0	1	1	0	0	3	3	0	0	0	0	0
სულ	239	48	287	47	5007	423	5430	49	845	27	872	86

დმ - დადასტურებული შემთხვევები

სშ - საექვო შემთხვევები

აღნიშნულ პერიოდში სალმონელათი გამოწვეული საკვებისმიერი დაავადებების თვალსაზრისით, ყველაზე მეტი ადამიანი დაავადდა ფრინველის ხორცი (700 შემთხვევა), ხოლო მეორე ადგილზე იყო ღორის ხორცი (436 შემთხვევა).

ცხრილი 2

საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი 5 ძირითადი პათოგენი-საკვები (CDC, 2013)

ეტიოლოგია	საკვები პროდუქტები	აფეთქების რ-ბა	დაავადების რ-ბა	ჰოსპიტალიზაციის რ-ბა	სიკვდილიანობა
<i>Salmonella</i>	ქათამი	9	700	213	0
<i>Salmonella</i>	ღორის ხორცი	8	436	65	0
<i>Salmonella</i>	ბოსტნეული	5	268	44	0
<i>Salmonella</i>	საქონლის ხორცი	5	210	19	0
<i>Norovirus</i>	ხილი	6	196	0	1

2014 წელს ევროპის 32 ქვეყანაში დაფიქსირდა 5 251 საკვებისმიერი დაავადების აფეთქება. უმრავლეს შემთხვევებში დაავადების გამომწვევი იყო ვირუსი, ხოლო შემდეგ იყო სალმონელა. დაავადების წყარო ძირითადად იყო კვერცხი და მისგან მომზადებული პროდუქტები, დანარჩენ შემთხვევებში ზღვის პროდუქტები [European Centre for Disease Prevention and Control, 2015].

საკვებისმიერი დაავადებების ძირითადი დამახასიათებელი სიმპტომი არის დიარეა, მაგრამ გართულების შემთხვევაში შესაძლებელია თირკმელისა და ღვიძლის დაზიანება, თავის ტვინის და სხვა ნევროლოგიური დარღვევები. ხანგრძლივად მიმდინარე გართულებების ფონზე შესაძლებელია განვითარდეს რეაქტიული ართრიტი და დამბლა. საკვებისმიერი პათოგენები იწვევენ ისეთ ინფექციებს, როგორც არის მენინგიტი. ქიმიურ დამბინძურებლებს შეუძლიათ გამოიწვიონ მწვავე მოწამვლა და ქრონიკული დაავადებები, რის შედეგადაც შეიძლება განვითარდეს კიბო [WHO, 2015]. საკვებისმიერი დაავადებებით გამოწვეული ეკონომიკური ზარალი აშშ-ში ყოველწლიურად შეადგენს 51.0-77.7 მილიარდ დოლარს [Scharff R, 2012]. 14 ძირითადი საკვებისმიერი დაავადების გამომწვევი პათოგენით გამოწვეული დაავადებების ზარალი შეადგენს 14 მილიარდ დოლარს აშშ-ში, აქედან ყველაზე მეტი არის სალმონელათი გამოწვეული ზარალი - 3.3 მლრდ დოლარი, შემდეგ მოყვება *Toxoplasma*

gondii – 3 მლრდ, *Listeria* – 2.6 მლრდ, *Norovirus* – 2 მლრდ და *Campylobacter* – 1.7 მლრდ. [Bhardwaj N, et. al. 2015].

ხშირ შემთხვევებში საკვებისმიერი დაავადებების შემთხვევების ზუსტი აღრიცხვა ვერ ხდება, რის გამოც შეუძლებელია დაავადებების გავრცელების სიზუსტის დადგენა. ასევე ხშირ შემთხვევებში შეუძლებელია დაავადების გამომწვევის ზუსტი განსაზღვრა, რადგანაც განვითარებად ქვეყნებში არ არსებობს ან სუსტად არის განვითარებული პათოგენების ლაბორატორიული კვლევის სისტემები, ხოლო თვით განვითარებულ ქვეყნებშიც კი არ არის მაღალ დონეზე. ნაწლავური ინფექციების გამომწვევი აგენტების 50-60%-ის იდენტიფიცირება ვერ ხდება შესაბამისი დიაგნოსტიკური საშუალებების არ არსებობის გამო [Tam C, et. al. 2012; Kariuki S, et. al. 2006].

საკვებისმიერი დაავადებების მზარდი ტენდენცია მკვეთრად არის დაკავშირებული საკვების დეფიციტთან. გაეროს სურსათის და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის (FAO)-ს 2015 წლის მონაცემებით, მსოფლიოში დაახლოებით 795 მლნ. ადამიანი, ანუ ერთი ადამიანი ყოველი 9-დან განიცდის შიმშილს, რეგულარულად ვერ იღებს საკმარის საკვებს აქტიური ცხოვრებისათვის, რის შედეგადაც იზრდება დაავადებების რისკი [FAO, 2015].

საკვებისმიერი დაავადებების მიზეზი შეიძლება იყოს ბაქტერიული, ვირუსული ან პარაზიტული. დღეისათვის საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პრობლემად რჩება მიკრობიოლოგიური საფრთხეები, რომლებიც სურსათში სხვადასხვა გზით ხვდება. წარმოებაში მომსახურე პერსონალი, ნედლეული, წყალი, ნიადაგი, ჰაერი არასრული ჩამონათვალია სურსათის წარმოების ტექნოლოგიური საწარმოო ციკლის ცალკეული ეტაპისა, რომელზედაც კონტროლის გამოყენებით შესაძლებელია თავიდან იქნას აცილებული, აღმოფხვრილი და მისაღებ დონემდე შემცირებული სურსათისაგან გამოწვეული რისკები.

მიკროორგანიზმების უნარი, გამოიწვიოს ადამიანის, ცხოველის, მცენარის დაავადებები, განპირობებულია მათი პათოგენურობით. პათოგენური მიკროორგანიზმები ორგანიზმში მოხვედრის შემდეგ იწვევენ სხვადასხვა ქსოვილსა და ორგანოში პათოლოგიურ ცვლილებებს და, შესაბამისად, ფიზიოლოგიური ფუნქციების დარღვევას.

სურსათის წარმოებაში, განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს, არა მარტო პათოგენური მიკროორგანიზმების, არამედ სასურსათო ნედლეულსა და სასურსათო პროდუქტებში მათი გამრავლებისათვის აუცილებელი პირობების არსებობა, გადამუშავების არასწორი რეჟიმი, ტექნოლოგიური პროცესების არასწორად მართვა, ნედლეულისა და სურსათის მექანიკური დაზიანება და სხვა.

პათოგენური მიკროორგანიზმები წარმოქმნიან ეგზო- და ენდოტოქსინებს. ეგზოტოქსინები ადვილად გამოიყოფიან მიკრობული უჯრედიდან გარემო არეში. ისინი ცილოვანი ბუნების ნივთიერებებია და ხასიათდებიან მოქმედების სპეციფიკურობით, ე.ი. მოქმედებენ განსაზღვრულ ორგანოებსა და ქსოვილებზე. ეგზოტოქსინები ნაკლებად მდგრადნი არიან სინათლის, ჟანგბადისა და მაღალი ტემპერატურის მიმართ. 70-80°C გაცხელებით იშლებიან და მცირდება მათი ტოქსიკური მოქმედების ეფექტი. დღეისათვის ცნობილია 50-მდე სახეობის ეგზოტოქსინი.

ენდოტოქსინების გამოყოფა მიკრობული უჯრედიდან გარემო არეში მხოლოდ მათი დაშლის – ავტოლიზის შედეგად ხდება. ისინი რთული, თერმომდგრადი

ნაერთებია, არ ახასიათებთ მოქმედების მკაცრი სპეციფიკურობა, უძლებენ 80-100°C გაცხელებას.

პათოგენური მიკროორგანიზმები სასურსათო ნედლეულსა და სასურსათო პროდუქტებში, ისევე როგორც ჰაერში, წყალსა და ნიადაგში, დაავადებული ადამიანებისა და ცხოველების, ასევე ბაქტერია და ვირუსმატარებელი ორგანიზმებიდან ხვდება.

საკვებისმიერი დაავადებები შესაძლებელია გავრცელდეს არა მარტო საკვებით, არამედ წყლით, ჰაერით ან უშუალოდ კონტაქტით. დაავადების გამოწვევისათვის საკმარისია სურსათში უმნიშვნელო რაოდენობით ცოცხალი მიკრობული უჯრედების არსებობა, რომლებიც ადამიანის ორგანიზმში მოხვედრისთანავე იწყებენ გამრავლებას და იწვევენ პათოლოგიურ პროცესებს. ისინი ძირითადად ნაწლავებში ლოკალიზდებიან, ამიტომაც ასეთი სახის დაავადებებს ნაწლავურ ინფექციებს უწოდებენ.

საკვებისმიერი დაავადებების რისკ-ფაქტორს წარმოადგენს ხორცი და ხორცპროდუქტები. ხორცის დაბინძურება შეიძლება მოხდეს როგორც ცხოველის სიცოცხლეში, ისე დაკვლის შემდეგაც, ხორცის დანაწევრებისას, ტრანსპორტირებისა და შენახვის დროს. განსაკუთრებით საყურადღებოა გატარებული ხორცი, რომლისთვის დამახასიათებელი კონსისტენცია ხელს უწყობს მიკროორგანიზმთა ინტენსიურად გამრავლებას. სალმონელები საკვებ პროდუქტებში, განსაკუთრებით ხორცპროდუქტებში, მდგრადობას ინარჩუნებენ ტემპერატურული დამუშავების შემდეგაც.

ხორცისა და ხორცპროდუქტების კონტამინაცია შესაძლებელია მოხდეს სტაფილოკოკური მიკროორგანიზმებით ცხოველების დაკვლისა და ნედლეულის გადამუშავების პროცესში. ტექნოლოგიური ციკლის სხვადასხვა ეტაპზე ანტაგონისტი მიკროფლორის ლიკვიდაცია ხელს უწყობს სტაფილოკოკების ინტენსიურ გამრავლებას და ტოქსინების წარმოქმნას [ლაფერაშვილი ქ, 2011].

საკვებისმიერი დაავადებების განვითარებაში მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია რძის პროდუქტებს. რძე და რძის პროდუქტები მრავალი ადამიანის ყოველდღიური რაციონის შემადგენელი ნაწილია. რძე მაღალი საკვები ღირებულების პროდუქტია და იდეალური საკვები არეა პათოგენური მიკროორგანიზმებისათვის. ადამიანის ჯანმრთელობისათვის პოტენციურ საფრთხეს წარმოადგენს ცუდად პასტერიზებული ან უმი რძის პროდუქტები, რომლებიც კონტამინირებულია თერმოფილური მიკროორგანიზმებით, ანტიმიკრობულ საშუალებათა მიმართ მდგრადი მიკრობებით. ამ გზით ხდება ზოონოზური დაავადებების გადაცემა ცხოველიდან ადამიანზე. ამგვარად, რძის პროდუქტების უსაფრთხოება მსოფლიოს მნიშვნელოვანი პრობლემაა [Gillespie I, et. al 2003; de Buyser M, et. al. 2001; Oliver S, et. al. 2005].

სალმონელებთან ასოცირებული საკვებისმიერი ინფექციები დიდი ხანია ცნობილია და ახლაც რჩება დიდ პრობლემად როგორც განვითარებად, ისე განვითარებულ ქვეყნებში. უმი რძე ან მისი პროდუქტები დაკავშირებული იყო სალმონელოზის მასიურ გამოვლენასთან ამერიკის შეერთებულ შტატებში და სხვა ინდუსტრიულ ქვეყნებში. როგორც მრავალ სხვა დაავადების შემთხვევაში, სალმონელოზის გადატანა განსაკუთრებით უჭირთ ბავშვებს, მოხუცებსა და იმუნოკომპრომისულ პირებს. უმი რძის კონტამინაცია უფრო ხშირად ხდება

გარემოდან, მომვლელი პერსონალიდან, ან როდესაც მასში ხვდება ფეკალი, დაბინძურებული წყალი, მტვერი, ბეწვი და ა. შ. [Mazurek J, et. al. 2004].

კოაგულაზა დადებითი სტაფილოკოკებით დასნებოვნებით გამოწვეული საკვებისმიერი ინტოქსიკაციები ბევრ ქვეყანაში ძალზე ხშირი მოვლენაა. ჯანმრთელობისთვის მთავარი საფრთხეა ის ფაქტორი, რომ სტაფილოკოკებს აქვთ უნარი წარმოქმნან თერმოსტაბილური ენტეროტოქსინები. სტაფილოკოკური ტოქსიკონფექციის მრავალი შემთხვევა გამოწვეულია სხვადასხვა საკვები პროდუქტებით. ამ პროდუქტების კონტამინაციას წინ უძღვის კოაგულაზა დადებითი სტაფილოკოკის არსებობა საწყის მასალაში, ან ამ მიკრობის მოხვედრა პროდუქტში საწარმოო პროცესის დროს. [Tollersrud T, et. al. 2000; Jorgensen H, et. al. 2005; Lamprell H, et. al. 2004].

საკვებისმიერი დაავადებების პოტენციურ წყაროს წარმოადგენენ ფრინველები, უმი კვერცხი და უმი კვერცხის შემცველი საკვები პროდუქტები [WHO, 2009]. დიდ ბრიტანეთში 2000-2012 წლებში სალმონელოზური აფეთქებების 382 შემთხვევიდან 95 დაკავშირებული იყო ფრინველის ხორცის და კვერცხის მოხმარებასთან [Jorgensen F, 2014].

უმი ან ცუდად მომზადებული ფრინველის ხორცის პროდუქტების მოხმარება, ფრინველთან კონტაქტი, არაპასტერიზებული რძის ან დაბინძურებული წყლის მოხმარება წარმოადგენს კამპილობაქტერიებისა და სალმონელების გავრცელების საშუალებას. შემთხვევების დეტალურად შესწავლისას დადგინდა, რომ კამპილობაქტერიოზით დაავადების უმეტესობა უკავშირდებოდა ფრინველის ხორცის და სხვა პროდუქტების მოხმარებას [Byrd J, et. al. 2007; Hanninen M, et. al. 2000; Kimura A, et. al. 2004; Friedman C, et. al. 2004]. კვერცხი წარმოადგენს სალმონელოზური დაავადებების მნიშვნელოვან წყაროს. სალმონელებს აქვთ უნარი ფრინველის რეპროდუქციულ ქსოვილებში შეღწევის და დარჩენის [van Immerseel F, 2010].

აგრეთვე ძალზედ მნიშვნელოვანია საკვების მომზადების პროცესში მკაცრი ჰიგიენური პირობების დაცვა. ფრინველის და ხორცპროდუქტების მომზადების დროს ხშირია ზედაპირების და სხვადასხვა ინვენტარის კონტამინაცია პათოგენური მიკროორგანიზმებით [Gorman R, et. al. 2002]. კვერცხის მომზადების პროცესში შესაძლებელია კონტამინირებული კვერცხის წვეთების გავრცელება 40 სმ-ზე, რაც წარმოადგენს დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმების გავრცელების საფრთხეს [Mattick K, et. al. 2003].

საკვებისმიერი დაავადებების თავიდან აცილების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი საშუალებაა მიკრობებით კონტამინაციის რისკის დროული აღმოჩენა და შემცირება. საკვები პროდუქტების საწარმოებში დაბინძურების თავიდან ასაცილებლად გაწმენდის სხვადასხვა მეთოდები გამოიყენება, რომლებიც დამოკიდებულია დამბინძურებლის ბუნებაზე [Wirtanen G, et. al. 2000]. გაწმენდის მეთოდები შეიძლება იყოს ფიზიკური, მაღალი ტემპერატურის გამოყენებით (მაგ. ცხიმების შემთხვევაში), ისეთი ზედაპირულად აქტიური ნაერთების საშუალებით, როგორც არის ნატრიუმის პიროფოსფატი, ნატრიუმის კარბონატი და სხვა. ქიმიური ნაერთები და დეზინფექტანტები გამოიყენება საკვები პროდუქტების შეხების ზედაპირზე არსებული მიკროორგანიზმების დეზინფექციისა და ჯვარედინი კონტამინაციის თავიდან ასაცილებლად. აგრეთვე შესაძლებელია გაწმენდის არა ქიმიური, თერმული და რადიაციული მეთოდების გამოყენება, რომლებიც არაეფექტურია და მოითხოვს დიდ

ენერგიას [Langsrud S, et. al. 2003]. აღნიშნულ მეთოდებს გააჩნიათ მავნე და არასასურველი შედეგები. მათ შორის, მოწყობილობების კოროზია, ქიმიური ნაერთების ტოქსიკური ეფექტი და მათი უნარი დააზიანონ საკვების ორგანოლეპტიკური მახასიათებლები. გარდა ამისა, ხდება იმ სასარგებლო მიკროორგანიზმების განადგურება, რომლებიც წარმოადგენენ ზოგიერთი საკვები პროდუქტის მნიშვნელოვან კომპონენტს [Bhardwaj N, et. al. 2015].

1.2. სალმონელა როგორც საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმი

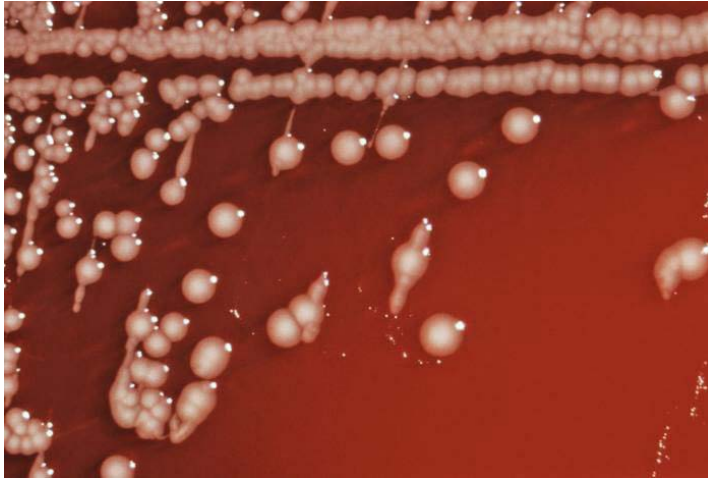
საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევ მიკროორგანიზმებს შორის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული არის *Salmonella*-ს გვარის მიკროორგანიზმები.

თანამედროვე კლასიფიკაციით (Bergeys Manual of Systematic Bacteriology-9th ed. 1984) სალმონელას გვარი შეიცავს ორ სახეობას *Salmonella bongori* და *Salmonella enterica*, რომელიც თავის მხრივ მოიცავს 7 ქვესახეობას: *enterica*, *cholerae-suis*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica*, რომლებიც დიფერენცირდება დნმ-ის ჰიბრიდიზაციით, ან ბიოქიმიური თვისებებით. პირველი ოთხი ქვესახეობა გამოყოფილი იყო კაუფმანის მიერ 1966 წელს. დღეისათვის *Salmonella*-ს გვარის მიკრობები მოიცავენ 2500-მდე სეროტიპს, რომლებიც განსხვავდებიან O და H ანტიგენებით [McQuiston J, 2008; Grimont P, et. al. 2007].

Salmonella-ს გვარის მიკროორგანიზმები არიან ფაკულტატური, გრამ-უარყოფითი მიკროორგანიზმები. მორფოლოგიურად ერთმანეთისაგან არ განსხვავდებიან, წარმოადგენენ წვრილ, გაწელილ, მომრგვალებულ ბოლოებიან ჩხირებს ზომით (1,4X0,5 მკმ). არ გააჩნიათ კაფსულა, იზოლატების უმეტესობა მოძრავია, მაგრამ არსებობს ასევე უძრავი მუტანტი სახეობებიც. ზრდის დიაპაზონი მერყეობს 8-45°C - მდე, ხოლო ზრდის ოპტიმუმი 35-37°C. ოპტიმალური pH 7,2-7,4. გლუკოზის და სხვა ნახშირწყლების ფერმენტაცია ხდება მჟავისა და აირის წარმოქმნით. მათ აქვთ უნარი ნახშირბადის ერთადერთ წყაროდ გამოიყენონ ციტრატი სხვა მიკროორგანიზმებისგან განსხვავებით, რომლებიც უფრო მომთხოვნი არიან საკვები არის მიმართ [Gray J, et. al. 2002].

სალმონელები მგრძობიარე არიან მაღალი ტემპერატურის მიმართ და იღუპებიან 70°C-ზე ზემოთ. ასევე პასტერიზაციის პროცესში ინაქტივირდებიან 72°C-ზე 15 წუთის განმავლობაში. სალმონელები მდგრადი არიან გამომშობის მიმართ და შეუძლიათ ასეთ პირობებში არსებობა მრავალი წლის განმავლობაში [Hanes D, 2003; Bhunia A, 2008].

სალმონელები ქემოორგანოტროფებია, ოქსიდაზა-უარყოფითი და კატალაზა-დადებითი. ნიტრატებს გარდაქმნიან ნიტრიტებად და ზრდისთვის არ მოითხოვენ NaCl-ს. მიკროორგანიზმები საკვებ ნიადაგებზე წარმოქმნიან S ფორმის კოლონიებს. ენდოს აგარზე - გამჭვირვალე ვარდისფერ კოლონიებს, პლოსკირევის აგარზე - უფერულ კოლონიებს [კერესელიძე მ, 2001]. გარდა აღნიშნულისა, სალმონელები აგრეთვე წარმოქმნიან ხორკლიან, მღვრიე და მშრალ R-კოლონიებს არასწორი კიდეებით. თხიერ ნიადაგებზე S ფორმები იძლევიან თანაბარ შემღვრევას, ხოლო R-ფორმები კი ნალექს.



სურ 2. სალმონელეების კოლონიების ზრდა სისხლიან აგარზე

სალმონელას პათოგენობის ძირითად ფაქტორებად გვევლინება ქოლერის მსგავსი ენტეროტოქსინი, რომელიც ლიპოპოლისაქარიდული ბუნებისაა. მათ გააჩნიათ 3 ძირითადი ანტიგენი: O- სომატური, H- შოლტისებური (თერმოსტაბილური) და K- ზედაპირული (კაფსულური) [Guibourdenche M, 2010].

სალმონელებს რთული ანტიგენური სტრუქტურა აქვთ. თერმოსტაბილური O ანტიგენი უძლებს დუღილს და ავტოკლავირებას 120°C-ზე 2,5 საათის განმავლობაში. ანტიგენური სტრუქტურის თავისებურება დამოკიდებულია ცილის ლიპოპოლისაქარიდების ოლიგოსაქარიდულ შენებაზე. O- ანტიგენების შემცველობის მიხედვით, სალმონელეები იყოფიან სეროლოგიურ ჯგუფებად. დღეისათვის ცნობილია 67 სეროლოგიური ჯგუფი. [Hu L, et. al. 2003].

თერმოლაბილური H- შოლტისებური ანტიგენი ადუღებისას იშლება. H- ანტიგენების არსებობა განაპირობებს სალმონელეების სეროვარებად დაყოფას. გამოყოფენ ანტიგენის სპეციფიკურ და არასპეციფიკურ ფაზებს [Yousef A, et. al. 2003].

სალმონელეების ფერმენტატული თვისებები განსხვავდება ერთი სეროვარის ფარგლებშიც კი. ისინი წარმოქმნიან გოგირდწყალბადს, არ წარმოქმნიან ინდოლს (ზოგიერთის გარდა) [კერესელიძე მ, 2001]. სალმონელეები არ ახდენენ ადონიტის, ლაქტოზის, საქაროზის და სალიცინის ფერმენტაციას, არ შლიან შარდოვანას. ცხრილ 3-ში მოცემულია სალმონელას გვარის ბაქტერიების ბიოქიმიური თვისებები.

სალმონელას გვარის ბაქტერიების ბიოქიმიური თვისებები

ტესტები ან სუბსტრატები	რეაქცია	ტესტები ან სუბსტრატები	რეაქცია
ადონიტი	-	ჟელატინის ჰიდროლიზი	±
არაბინოზა	+	დეზამინაზა	-
გლიცერინი (შტერნით)	±	დეკარბოქსილაზა	+
დულციტი	±	დეჰიდროლაზა	+
ინოზიტი	±	გლუტამინის მჟავა	+
ქსილოზა	±	სიმონსის ციტრატი	-
ლაქტოზა	±	კრისტენსენის ციტრატი	+
მალტოზა	+	ნიტრატების აღდგენა	±
მანიტი	+	აცეტატი	+
რამნოზა	+	მალონატი	±
სალიცინი	-	მუკატი	±
საქაროზა	-	D-ტარტრატი	±
სორბიტი	+	ტარტრატი	±
ტრეგალოზა	+	L-ტარტრატი	±
აცეტონი	-	გალაქტოზიდაზა	±
ინდოლი	-	β-გალაქტოზიდაზა	+
გოგირდწყალბადი	+	KCN-ან ნიადაგზე ზრდა	±
შარდოვანას ჰიდროლიზი	-	მომრაობა	+99%

(შენიშვნა: მ. კერესელიძის (2006) მიხედვით).

სალმონელებით გამოწვეული დაავადება - სალმონელოზი სიხშირით მეორე ადგილზეა საკვებისმიერ დაავადებებს შორის [Arguello H, et. al. 2013], რომელიც მწვავედ მიმდინარეობისას ვლინდება ცხელებით და ფაღარათით, მძიმე ინტოქსიკაციით და ორგანიზმის სითხისაგან დაცლით [D'Aous J, et. al. 2007].

დაავადებას უწოდეს სალმონელოზი ამერიკელი დ. სალმონისა და ბაქტერიოლოგ ტ. სმიტის საპატივსაცემოდ, რომლებმაც დაავადების აღმძვრელი გამოჰყვეს ღორების ქოლერის ეპიდემიის დროს 1885 წელს [Miller S, et. al. 2005].

სალმონელოზის აღმძვრელის წყაროა ავადმყოფი და ავადმყოფობამოხდილი სალმონელამატარებელი ცხოველები, რომლებიც აღმძვრელებს გარემოში გამოჰყოფენ რძესთან და ფეკალთან ერთად. გამონადენით შეიძლება დაისვაროს ქვეშაფენი, იატაკი, კედლები, მოვლის საგნები, საკვები, საკვებური, წყალი, საწყურვებელი და სხვა, რომლებიც წარმოადგენენ ინფექციის აღმძვრელის გადაცემის ფაქტორს. აღმძვრელის გადაცემა შეიძლება მოხდეს დაბინძურებული რძისა და ხსენის საშუალებითაც. ადამიანების დაინფიცირება სალმონელებით შესაძლებელია როგორც კონტამინირებული საკვები პროდუქტების მოხმარებით, ასევე დასნებოვნებული ცხოველისა და ფრინველის უშუალო კონტაქტით [Stofforth], et. al. 2006].

სალმონელოზებისათვის დამახასიათებელია დაავადების მიმდინარეობის მწვავე, ქვემწვავე და ქრონიკული ფორმები. სალმონელებით გამოწვეული დაავადება სალმონელოზი საკმაოდ რთულად მიმდინარეობს ბავშვებში, მოხუცებსა და იმუნოკომპრომისულ ადამიანებში. დაავადება მიმდინარეობს სხვადასხვა ფორმით, წარმოდგენილი კლინიკური ნიშნების ფართო სპექტრით. ძირითადი დამახასიათებელი სიმპტომები არის დიარეა, თავისა და მუცლის ტკივილი, ცხელება, ღებინება, იშვიათ შემთხვევებში შესაძლებელია გამოიწვიოს სისხლიანი დიარეა [D'Aoust], et. al. 2007]. ინკუბაციური პერიოდი შეადგენს 12-72 საათს, ზოგიერთ შემთხვევებში, რაც დაკავშირებული იყო დიდი რაოდენობით კონტამინირებული საკვები პროდუქტების მოხმარებით, ინკუბაციური პერიოდი დაფიქსირდა 2.5 საათზე ნაკლები. გართულების გარეშე დაავადების სიმწვავე გრძელდება 48 საათს, ხოლო გართულების შემთხვევაში შეიძლება განვითარდეს ჯანმრთელობის ისეთი პრობლემები, როგორც არის ჰიპოტენზია, კრუნჩხვები, ოლიგურია ან ურემია. სალმონელოზისთვის დამახასიათებელია ფატალური შედეგი. განსაკუთრებით შეიძლება აღინიშნოს *Salmonella Typhimurium* DT104, რომლის მიერ გამოწვეულ ინფექციას სხვა სალმონელებთან შედარებით ახასიათებს ორჯერ მეტი ჰოსპიტალიზაციის რიცხვი და 10-ჯერ მეტი ფატალური შედეგი [WHO, 2013].

ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული სეროტიპები, რომლებიც იწვევენ საკვებისმიერ სალმონელოზს ადამიანებში არის *S. typhimurium* და *S. enteritidis*.

უკანასკნელი 10 წლის განმავლობაში, ევროპის ქვეყნებში სალმონელოზების გამოწვევის ძირითად წყაროს წარმოადგენს ღორის ხორცი და აფეთქებები უმეტეს შემთხვევებში დაკავშირებულია ღორის ხორცის მოხმარებასთან. [EFSA, 2013; Hauser E, et. al. 2010]. 2013 წელს დიდ ბრიტანეთში ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ღორის ხორციდან გამოყოფილ მიკროორგანიზმებს შორის დომინირებდა *S. Typhimurium* [AHVLA, 2014].

ინფექციის კარიბჭედ გვევლინება წვრილი ნაწლავი, სადაც ხდება აღმძვრელის კოლონიზაცია და მისი შემდგომი ჩანაცვლება ორგანიზმში. მეცნიერთა მიერ დღესაც არ არის დადგენილი თუ რატომ ხდება სალმონელოზური ინფექციების დროს მოცემული უბნის მხოლოდ კოლონიზაცია და შემდგომში მისი ინვაზია, რაც შემდგომში ხელს უწყობს გასტროენტეროლოგიურ დაავადებებს. ამასთან ერთად უმნიშვნელო პროცენტით დაავადების კერაში შეიძლება წარმოიშვას პროლიფერაციული ან ლპობითი უბნები რაც დამახასიათებელია სალმონელოზების ტიფოიდური და სეპტიკური ფორმებისათვის.

იმის გამო, რომ სალმონელას ჯგუფის მიკროორგანიზმთა უმეტესობა ფლობს პათოგენობის განმაპირობებელ ისეთ ფაქტორებს, როგორცაა: ენტეროტოქსინის

სინთეზის უნარი, ადჰეზიური თვისებები, ინვაზიურობა და ა.შ. აუცილებელია თითოეულ კონკრეტულ შემთხვევაში ჩატარდეს ბაქტერიოლოგიური კვლევის სრული კომპლექსი. მიუხედავად იმისა, რომ გაფართოვდა შეხედულება სალმონელებით გამოწვეული ინფექციური დაავადებების პათოგენეზის შესახებ, რიგი საკითხები მაინც ბოლომდე შეუსწავლელი რჩება. კერძოდ, პათოგენობის ისეთი ფაქტორების გავრცელება, როგორცაა ენტეროტოქსიგენობა, ადჰეზიის ანტიგენების და ჰემოლიზინების არსებობა და სხვა.

ფრინველის ხორცი და კვერცხი წარმოადგენს ადამიანებში სალმონელოზის გამომწვევ ერთ-ერთ მნიშვნელოვან გადამტანს. ხშირია სალმონელების მიერ გამოწვეული ინფექციები მეფრინველეობის ფაბრიკებში. ასევე ტრანსპორტირების დროს შესაძლებელია ინფექცია გავრცელდეს არასაკმარისად გასუფთავებული კონტეინერებიდან ან ფრინველის ფეკალიებიდან, რის შედეგადაც ხდება ფრინველების ინფიცირება როგორც სალმონელებით, ასევე სხვა ზოონოზური პათოგენებით, *Campylobacter spp.* და სხვ. [Corry J, et. al. 2002; Slader J, et. al. 2002].

ფრინველების დაინფიცირება სალმონელებით ხდება ძირითადად საკვებით, ასევე პარაზიტებით, მათ შორის მღრღნელებით. სალმონელოზების მიმდინარეობა და კლინიკური ნიშნები ფრინველებსა და ცხოველებში დამოკიდებულია დაავადების აღმძვრელის ვირულენტობასა და ფრინველისა და ცხოველის ბუნებრივი გამძლეობის დონეზე, რომელიც განისაზღვრება კვებით და მოვლა-შენახვის პირობებით და ზოოჰიგიენური პირობებით. არახელსაყრელ მოვლა-შენახვისა და არარაციონალური კვების პირობებში ქვეითდება ორგანიზმის რეზისტენტობა, რაც ხელსაყრელ პირობას ქმნის მიკროოგანიზმთა ვირულენტობისათვის, რომელიც თავის მხრივ ხელს უწყობს ინფექციური პროცესის აღმოცენებას და შემდგომში განვითარებას. უფრო ხშირად ვითარდება სეპტიცემიური პროცესი. ასევე დიდი მნიშვნელობა ენიჭება მიკრობთა მიერ პროდუცირებულ ტოქსინებს [Bailey J, et. al. 2001; Liebana E, et. al. 2003].

ენტეროტოქსინი, რომელიც იწვევს ერთროციტების ადენილატციკლაზის აქტივაციას, იწვევს ადენოზინტრიფოსფატის, ფოსფოლიპიდების, პროსტაგლანდინების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების უჯრედშიდა კონცენტრაციის მატებას. ეს არღვევს ნაწლავის ლორწოვან გარსში Na და Cl იონების ტრანსპორტირების პროცესს.

სალმონელების გავრცელების წყაროს წარმოადგენს აგრეთვე კვერცხი. კვერცხში სალმონელები პირველად აღმოჩენილ იქნა 1920-იანი წლების ბოლოს დიდ ბრიტანეთში [Scott W, 1930]. ამ დროისთვის რამდენიმე აფეთქება მოხდა, რომელიც დაკავშირებული იყო უმი კვერცხის მოხმარებასთან [Wilson J, 1945; Solowey M, et. al. 1946; Winter A, 1946]. ინფექციის გამომწვევი ბაქტერია აღმოჩნდა კვერცხის ნაჭუჭზე [Cantor A, et. al. 1948]. ინფექციის თავიდან ასაცილებლად დიდ ბრიტანეთსა და აშშ-ში ახდენდნენ კვერცხის პარტერიზაციას, ასევე რეცხავდნენ და შემდეგ ხდებოდა შეფუთვა [Winter A, 1946]. დაცვის ამ ზომებმა გარკვეული შედეგი გამოიღო და მომდევნო 20 წლის განმავლობაში საგრძნობლად შემცირდა კვერცხის მოხმარებით გამოწვეული სალმონელოზური ინფექციების დონე.

სალმონელა შეიძლება გამოიყოს როგორც ადამიანის, ისე ცხოველების კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან [Miller S, et. al. 2005].

სალმონელოზი ვითარდება ძირითადად ორალური გზით, კონტამინირებული საკვების ან წყლის მიღებით. ნებისმიერი საკვები პროდუქტი ადამიანისთვის

წარმოადგენს ინფექციის პოტენციურ საფრთხეს, განსაკუთრებით მაღალი რისკის შემცველია არაჰიგიენურად დამუშავებული ან შეუფუთავ მდგომარეობაში მყოფი საკვები. მაგალითად, სავაჭრო ობიექტებში არსებული ხორცპროდუქტების 1-დან >50% კონტამინირებულია სალმონელებით, რომლებიც ასრულებენ მნიშვნელოვან როლს ადამიანებში ინფექციის გადაცემაში. შინაური ფრინველი, ქათამი, იხვი და ინდაური წარმოადგენს ინფექციის გამომწვევის დიდ რეზერვუარს და ხშირ შემთხვევებში არის ადამიანებში სალმონელოზის გამომწვევი [Foley S, et. al. 2008].

საკვები პროდუქტების სათანადოდ დამუშავება ამცირებს ინფექციის განვითარების რისკს, თუმცა სალმონელებს აქვთ უნარი იცოცხლონ 70°C-ზე დაბალ ტემპერატურაზე მომზადების პირობებში, რაც კვლავ წარმოადგენს საფრთხეს ინფექციის. საკვები პროდუქტების კონტამინაცია შესაძლებელია მოხდეს მღრღნელების ან პარაზიტების მეშვეობით, რომლებიც პათოგენური მიკროოგანიზმების გადამტანები არიან. ასევე შესაძლებელია ჯვარედინი ინფექციის განვითარება აირწვეთოვანი გზით, მტვრის ან მშრალი საკვების მეშვეობით, რომლებიც შეიცავენ პათოგენურ მიკროორგანიზმებს [Darcy H, 2003].

სალმონელები შეიძლება გადაეცეს ადამიანიდან ადამიანზე პირდაპირ გზით ან საგნების საშუალებით კონტამინირებული საკვების ან წყლის არსებობის გარეშე, მაგრამ დაავადების გადაცემის ეს გზა ნაკლებად არის განვითარებული, ძირითადად ფიქსირდება საავადმყოფოებში სალმონელოზური აფეთქებების დროს. ჰოსპიტალური სალმონელოზი განსაკუთრებულ საფრთხეს წარმოადგენს ახალშობილებში, იმუნოკომპრომისულ და ფართო სპექტრის მქონე ანტიბიოტიკების მომხმარებელ პირებში.

დადგენილია, რომ სალმონელოზების აფეთქებების 30% დაკავშირებულია ჯვარედინ კონტამინაციასთან. ეს შესაძლებელია მოხდეს სხვადასხვა ფორმით, მაგრამ ყველაზე მნიშვნელოვანი არის მომზადებული და უმი საკვები პროდუქტების პირდაპირი თუ არაპირდაპირი კონტაქტი [Carrasco E, et. al. 2012].

1998-2002 წლებში ინგლისსა და უელსში ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ დაავადების გამომწვევ რისკ-ფაქტორ საკვებს შორის დომინირებდა კვერცხი და კვერცხისგან მომზადებული საკვები (69 აფეთქება), ხოლო მეორე ადგილზე იყო ფრინველის ხორცი (39 აფეთქება). თითქმის იგივე მაჩვენებელი იყო ევროპის დანარჩენ ქვეყნებში [Mastroeni P, et. al. 2006].

ქვეყნებში, სადაც მაღალ დონეზე არის საკვები პროდუქტების კონტროლი, საკვებისმიერი დაავადებების აფეთქებები თანდათან კლებულობს. მაგალითად, 1989 წელს დიდ ბრიტანეთში ჩატარებული კვლევის თანახმად, სავაჭრო ქსელში არსებული გაყინული ქათმის ხორცის 80% კონტამინირებული იყო სალმონელებით. ხოლო 2001 წელს ჩატარებული კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ მხოლოდ 5% იყო კონტამინირებული პათოგენური მიკროორგანიზმებით. ასეთი მკვეთრი ცვლილება გამოწვეული იყო ქათმების ვაქცინაციით [Anonymous, 2003].

სალმონელოზის ყველაზე დიდი ეპიდემიური აფეთქება მოხდა 1994 წელს აშშ-ში, როდესაც ცნობილი ფირმის ნაყინის ქარხანაში ნაყინში აღმოჩნდა *Salmonella enteritidis* შტამი. დაავადდა დაახლოებით 220000 ადამიანი [10. European Commission, 2002].

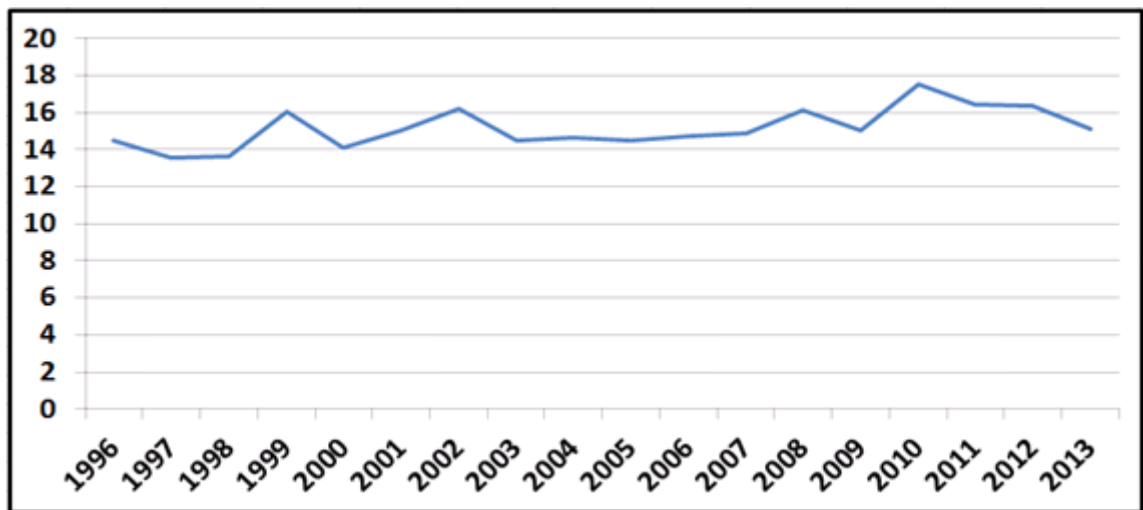
2008 წელს ამერიკის რამოდენიმე შტატში მომხდარი სალმონელოზის აფეთქების გამომწვევი იყო *Salmonella typhimurium*. დასნებოვნების წყარო - რძის პროდუქტები, კერძოდ, ყველი.

2015 წელს აშშ-ში დაფიქსირდა 1503 შემთხვევა, აქედან 319 ჰოსპიტალიზაცია, 6 ლეტალობა. ძირითადი გამომწვევი იყო *Salmonella* Enteritidis და ინფექციის წყარო გაყინული ქათმის ხორცი.

2012 წელს სალმონელოზის შემთხვევები დაფიქსირდა ჩრდილოეთ ევროპაში. გამომწვევი იყო *Salmonella thompson*. მიკრობი აღმოჩნდა შებოლილ ორაგულში [Friesema I, 2012]. სალმონელოზის გავრცელების ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი არის განვითარებად ქვეყნებში.

დიაგრამა #1

სალმონელოზის გავრცელების დინამიკა 1996-2013 წწ, CDC-ს მონაცემებით



*100 000 მოსახლეზე

რაც შეეხება საქართველოს, 2012 წლიდან, წინა წლებთან შედარებით, მომატებულია სავარაუდო საკვებისმიერი მოშხამვების ინციდენტობის მაჩვენებელი. 2012-2014 წლებში საქართველოში წლიურად ნაწლავთა ინფექციების დაახლოებით 25000 შემთხვევა დარეგისტრირდა, მათგან უდიდესი ნაწილი სავარაუდო ინფექციური წარმოშობის დიარეებს უკავია. დაავადების შემთხვევათა მატება იწყება თბილი პერიოდის დადგომისთანავე, რაც დამახასიათებელია დიარეით მიმდინარე დაავადებებისათვის. ზაფხულის სეზონზე მოდის შემთხვევათა 60% და პიკს აღწევს აგვისტოს თვეში.

2014 წელს საქართველოში აღირიცხა სალმონელოზების 295 შემთხვევა (ინციდენტობა 7,9%), 80%-ით მეტი, ვიდრე გასულ 2013 წელს (164 შემთხვევა, ინციდენტობა 3.7). დაავადების გამომწვევ ფაქტორთა ანალიზის შედეგებით მიღებული იქნა, რომ შემთხვევების უმეტესი ნაწილი დაკავშირებული იყო ყველის და საქონლის ხორცისგან მომზადებული საკვების მიღებასთან, ხოლო დაავადების გამომწვევ ძირითად აგენტს წარმოადგენდა *S. typhimurium* და *S. enteritidis*.

2014 წელს ქვეყანაში დაფიქსირდა სამი ეპიდაფეთქება. პირველ შემთხვევაში დაავადება დაკავშირებული იყო საშაურმეში მიღებულ ქათმის ხორცთან, გამომწვევი აგენტი - *S. enteritidis*. მეორე შემთხვევაში ეპიდაფეთქების განვითარებისათვის მაღალი რისკით გამოირჩეოდა საქონლის ხორცისგან მომზადებული საკვები.

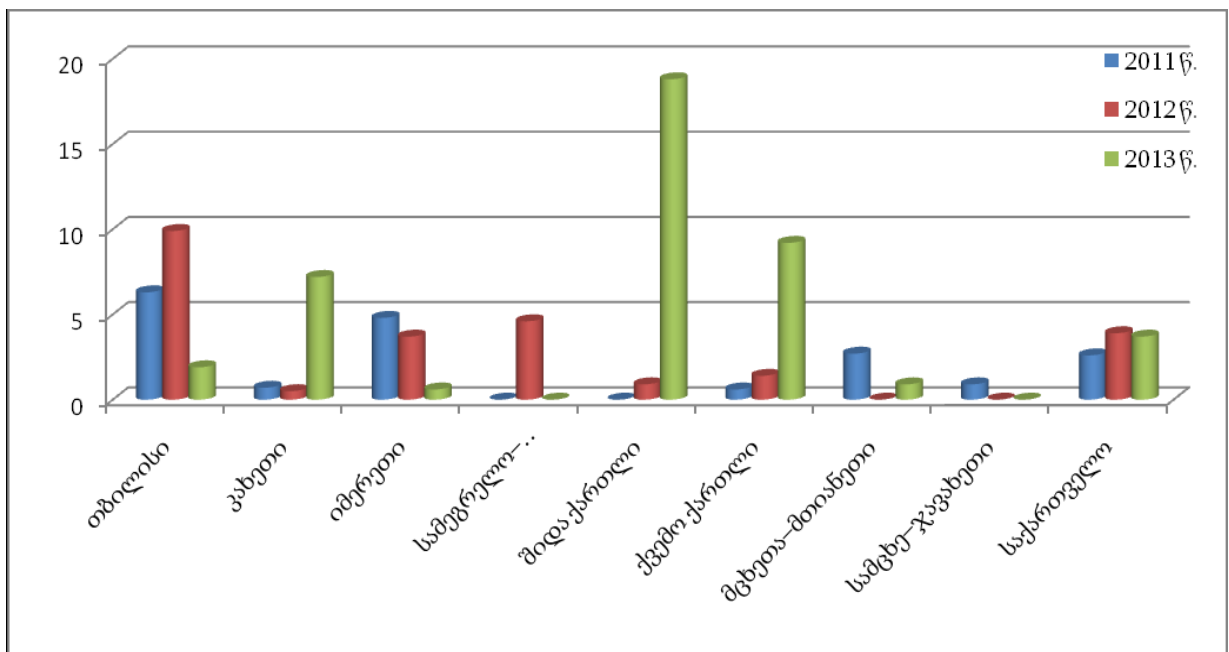
ბაქტერიოლოგიური კვლევის შედეგად დადასტურდა გამომწვევი აგენტი *S. typhimurium*. ხოლო მესამე ეპიდაფეთქება დაკავშირებული იყო შემწვარი თევზის მოხმარებასთან. ბაქტერიოლოგიური კვლევის შედეგად რამდენიმე შემთხვევაში დადასტურდა *S. enteritidis*. [დკსჯეც, 2015].

დღეისათვის ცნობილი სალმონელების 2500-მდე სეროვარიდან საქართველოში აღრიცხულია სალმონელების 15-მდე სეროვარი. ბოლო 3 წლის მონაცემებით, ეპიდაფეთქებების დროს აღრიცხულია *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella isangi*, *Salmonella newport*, *Salmonella hindmarsh*. გარდა ეპიდაფეთქებისა დაფიქსირებულია ერთეული შემთხვევები გამოწვეული შემდეგი სეროვარებით: *Salmonella kissi*, *Salmonella virchow*.

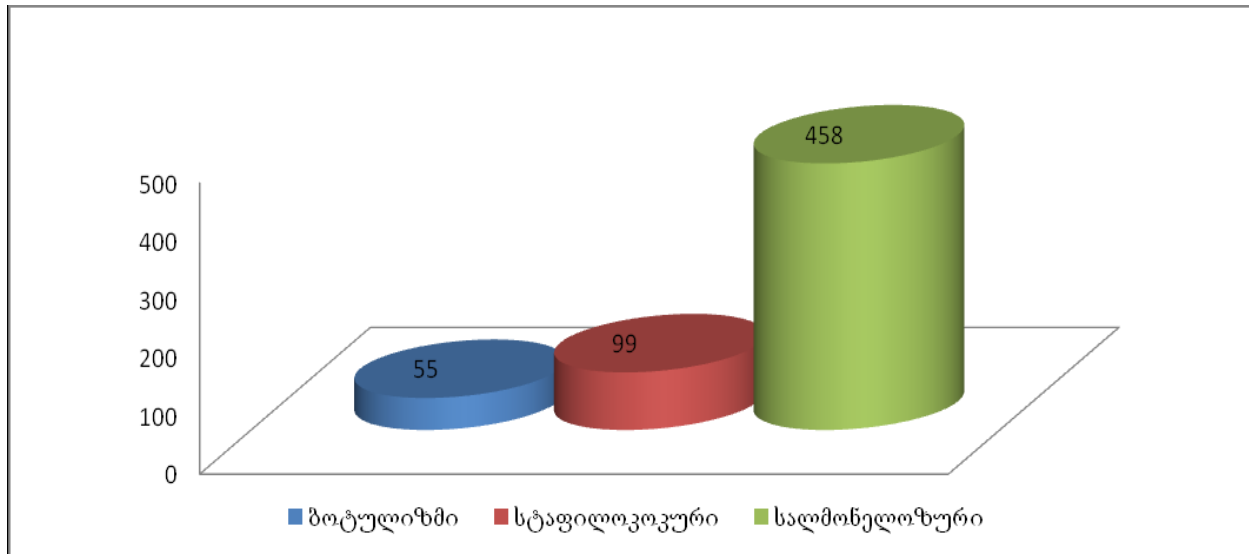
2011 წელს საქართველოში აღირიცხა სალმონელური ეტიოლოგიის კვებითი მოშხამვის 118 შემთხვევა; 2012 წელს 176 შემთხვევა; 2013 წელს 164 შემთხვევა.

დიაგრამა #2

სალმონელური ეტიოლოგიის კვებითი ტოქსიკონფექციების ინციდენტობა მხარეების მიხედვით (2011-2013 წწ.)



დადგენილი ბაქტერიული ეტიოლოგიის საკვებისმიერი ტოქსიკოინფექციები
(2011–2013წწ.)



დიაგრამიდან ჩანს, რომ დადგენილი ეტიოლოგიის საკვებისმიერი დაავადებებიდან დომინირებს სალმონელოზი.

დადგენილია რომ სალმონელოზი, როგორც დამოუკიდებელი დაავადება იშვიათად გვხვდება, მას ყოველთვის თან ახლავს თანხმლები მიკროფლორა, რომელიც პირდაპირ ან ირიბად ახდენს გავლენას დაავადების სიმძიმეზე და მიმდინარეობის თავისებურებებზე.

სალმონელოზური და არამარტო სალმონელოზური ინფექციების განვითარებაში მონაწილე სხვადასხვა სახეობის მიკროორგანიზმების ხვედრითი წონა განსხვავებულია. ყველაზე ხშირად ესენი არიან: *S. aureus*, *E.coli*, *P. aeruginosa*, *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *K. pneumonia*.

საკვებისმიერი ინფექციების ინციდენტობის შესამცირებლად არსებითი მნიშვნელობა აქვს უახლოეს დროში, აღრიცხვის და შეტყობინების სისტემის მოწესრიგებას. გადამწყვეტი მნიშვნელობა ენიჭება ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის რაოდენობრივი და ხარისხობრივი მაჩვენებლების გაუმჯობესებას, რადგან ქვეყანაში ბაქტერიოლოგიური ლაბორატორიული ბაზის სიმწირის გამო, საკვებისმიერი დაავადებების შემთხვევათა უმეტესობა რჩება სათანადო კვლევის გარეშე და აღირიცხება როგორც სავარაუდო საკვებისმიერი მოშხამვა ან სავარაუდო ინფექციური წარმოშობის დიარეა. გარკვეულ შეფერხებებს ქმნის ლაბორატორიების სადიაგნოსტიკო საშუალებებით უზრუნველყოფის არასაკმარისი დონე.

2011 წელს 2603 შემთხვევიდან ლაბორატორიულად გამოკვლეულია 131 შემთხვევა(5%), დადასტურებულია 77(9%), ხოლო ლაბორატორიულად და ეპიდემიოლოგიურად დადასტურებულია 94 შემთხვევა(4%).

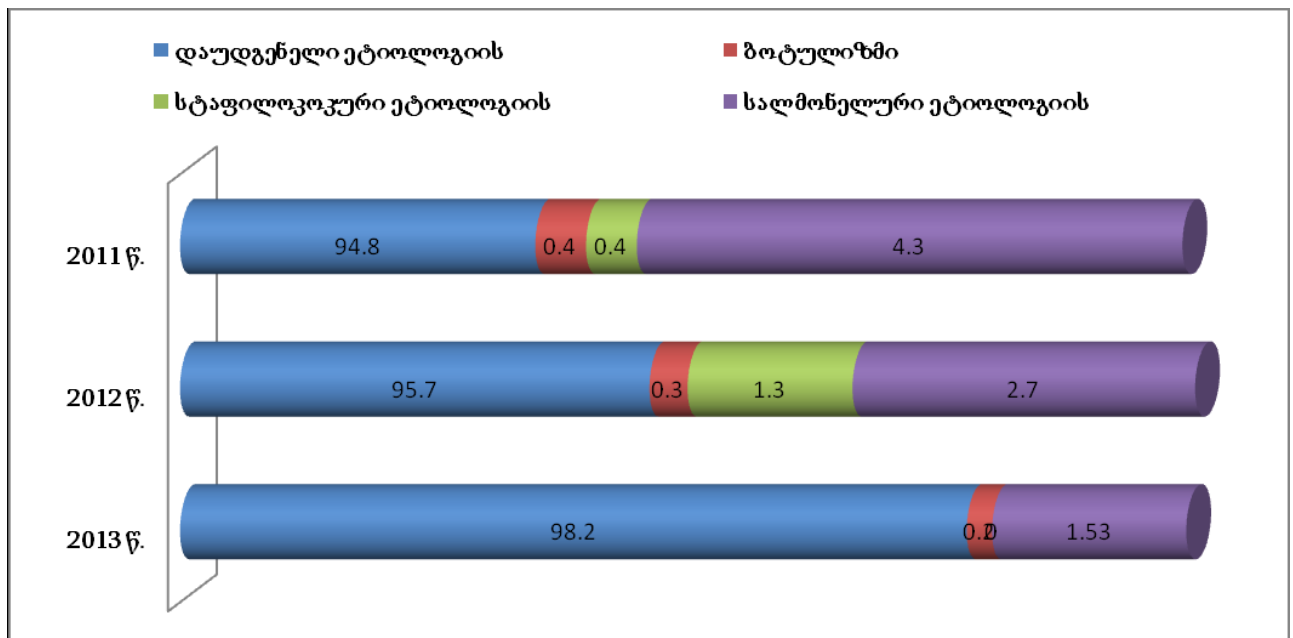
2012 წელს 6460 შემთხვევიდან ლაბორატორიულად გამოკვლეულია 176 შემთხვევა(3%), მათგან დადასტურებულია 62 (37%), ხოლო ლაბორატორიულად და

ეპიდემიოლოგიურად 100 შემთხვევა (2%). ასევე ჯგუფური შემთხვევებიდან ლაბორატორიულად და ეპიდემიოლოგიურად დადასტურებულია სტაფილოკოკური წარმოშობის საკვებისმიერი მოწამვლის 89 შემთხვევა (*St. aureus*).

2013 წელს 10550 შემთხვევიდან ლაბორატორიულად გამოკვლეულია 49 შემთხვევა (0,5%), მათგან დადასტურებულია მხოლოდ 13 შემთხვევა (27%).

დიაგრამა #4

სხვადასხვა ეტიოლოგიის საკვებისმიერი ტოქსიკონფექციების ხვედრითი წილი (2011–2013) NCDC



საკვებისმიერი დაავადებების თავიდან აცილების ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი საშუალებაა მიკრობებით კონტამინაციის რისკის დროული აღმოჩენა და შემცირება.

საკვებისმიერი დაავადებების შესწავლა საჭიროებს ინფექციის წყაროს გამოვლინებას, რაც თავის მხრივ გულისხმობს დაავადების გამომწვევი პათოგენური მიკროორგანიზმების შტამებისა და სუბტიპების დადგენას. ბაქტერიული შტამების მოლეკულური დიფერენცირების ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ მეთოდს წარმოადგენს პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზი (PFGE). იგი გამოიყენება ქრომოსომული და მაღალმოლეკულური დნმ-ების განსაცალკევებლად. PFGE მოლეკულური ტიპირების მეთოდების “ოქროს სტანდარტად” არის მიჩნეული, ხასიათდება მაღალი გარჩევადობის უნარით და გამოიყენება მრავალი პათოგენის გენოტიპირებისათვის. მეთოდი დაფუძნებულია ნატიური გენომური დნმ-ის დაუზიანებელი სახით ექსტრაქციაზე და შემდეგ მისი რესტრიქციული ენდონუკლეაზით დამუშავებაზე, რის შედეგადაც მიიღება მაღალმოლეკულური მასის მქონე დნმ-ის ფრაგმენტები. ამ ფრაგმენტების დაცილება ხდება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით. ელექტრული ველის მიმართულების

ცვლილების გამო მოლეკულები იცვლიან ორიენტაციას და ზომების მიხედვით სხვადასხვა სისწრაფით გადაადგილდებიან აგაროზის გელის ფორებში. დიდი ზომის მოლეკულებს რეორიენტაციისათვის უფრო მეტი დრო სჭირდებათ, შესაბამისად აქვთ უფრო ნაკლები დრო პულსირებისას ველის რომელიმე ერთი მიმართულებით გადასაადგილებლად. ამიტომაც ისინი ჩამორჩებიან შედარებით ნაკლები ზომის მოლეკულებს და ამგვარად მიიღება გელში დნმ-ის მოლეკულების ზომების მიხედვით განაწილება. ამ მეთოდით შესაძლებელია ანალიზი ჩაუტარდეს 20 კილობაზიდან (Kb) რამდენიმე მეგაბაზამდე (Mb) ზომის ფრაგმენტებს. მიღებული პროფილი ყველა შტამისთვის ინდივიდუალურია და მისი დნმ-ის ანაბეჭდს წარმოადგენს, რადგან ერთი კლონიდან წარმოქმნილ შტამებს ერთნაირი რესტრიქციული საიტები გააჩნიათ და შესაბამისად მათი ანაბეჭდიც იდენტურია. შტამების დიფერენცირება აუცილებელია დაინფიცირების წყაროსა და პათოგენის გადაცემის გზების დასადგენად. ეს უკანასკნელი კი საშუალებას იძლევა უფრო ზუსტად განისაზღვროს ინფექციის აფეთქებები და ლიმიტირებულ იქნას ამ პათოგენებით გამოწვეული ინფექციების გავრცელება.

1.3. სალმონელოზების აღმძვრელების ანტიბიოტიკორეზისტენტობა

მიუხედავად იმისა, რომ მედიცინაში დიდი რაოდენობით მოიპოვება სხვადასხვა კლასიფიკაციის სამკურნალო საშუალებები, ინფექციური დაავადებების მკურნალობა სულ უფრო რთულ და პრობლემურ ხასიათს იღებს, ამის მიზეზი კი ის არის, რომ დროთა განმავლობაში ბუნებაში წარმოიქმნა ამა თუ იმ სამკურნალო საშუალებისადმი მდგრადი, სელექციური, რეზისტენტული შტამები, რამაც ბევრი ანტიბიოტიკის, სულფანილამიდის და სხვა სამკურნალწამლო საშუალების ეფექტი მნიშვნელოვნად დააქვეითა და ხშირად უსარგებლოც გახადა [WHO, 2014].

ანტიბიოტიკებისადმი მიკროორგანიზმების მიერ შეძენილი მდგრადობა დღემდე რჩება აქტუალურ პრობლემად, ბაქტერიების რეზისტენტული ფორმების ყველგან გავრცელების და მედიცინაში არსებული და გამოყენებული პრეპარატების ეფექტურობის სისტემატური დაქვეითების გამო. ამ მოვლენის გენეტიკური ბუნების ამოხსნის შემდეგ განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს არაქრომოსომული ელემენტების გამოვლენა, აღსანიშნავია, რომ R-პლაზმიდები პასუხისმგებელი არიან არა მარტო რეზისტენტობის ფართო გავრცელებაზე, არამედ ადეტერმინირებენ განსხვავებულ ფენოტიპურ თვისებებს (მძიმე მეტალის იონებს, ულტრაიისფერი გამოსხივებისადმი მდგრადობას და ა. შ.) [Su L, et. al. 2004].

ანტიბაქტერიულ, ქიმიოთერაპიულ საშუალებებს მიეკუთვნებიან ანტიბიოტიკები, სულფანილამიდური პრეპარატები, სხვადასხვა ქიმიური შენების სინთეზური და ნახევრადსინთეზური ანტიბიოტიკები.

ანტიბიოტიკების მოქმედების პრინციპი სხვადასხვაა და დამოკიდებულია მის ქიმიურ შენებასა და მიკრობის ბიოლოგიურ თავისებურებებზე. ანტიბიოტიკები მიკროორგანიზმებში იწვევენ ისეთი პროცესების დათრგუნვას, როგორცაა: უჯრედის კედლის კომპონენტების სინთეზი, ციტოპლაზმური მემბრანის და ცილების სინთეზი, ნუკლეინის მჟავების ტრანსკრიფციის შეწყვეტა [Schwarz S, et. al. 2001].

მიკროორგანიზმებმა ევოლუციის პროცესში შეიძინეს გენეტიკური ინფორმაციის გაცვლისა და გადაცემის განსაკუთრებული მექანიზმები (ტრანსფორმაცია, კონიუგაცია, ტრანსდუქცია). თითოეული ეს პროცესი ბუნებაში შეიძლება სპონტანურად წარმოიშვას.

მრავალრიცხოვანი გამოკვლევებით დადგენილია, რომ გენეტიკური ელემენტების სხვადასხვა გზებით გადაცემისას - კონიუგაციით, R-დეტერმინანტების ტრანსდუქციით, როგორც სახეობის შიგნით, ასევე სახეობათაშორის და გვართაშორის, ერთ ბაქტერიაში შეიძლება აღმოჩნდეს რამოდენიმე სხვადასხვა ნიშნის მადეტერმინირებელი პლაზმიდა. არსებობს სხვადასხვა პლაზმიდის ერთდროულად არსებობის შესაძლებლობა, რომლებიც ზოგიერთ შემთხვევაში წარმოქმნიან კონტეგრატს, რეკომბინანტებს, შეუძლიათ ჩართონ ტრანსპოზონები სხვადასხვა წყაროებიდან (პლაზმიდა, ქრომოსომა), რასაც საბოლოოდ შეუძლია წარმოქმნას ისეთი პოლირეზისტენტული შტამები, რომლებიც იწვევენ ჯგუფურ ინფექციურ დაავადებებს [Sunde, 2006].

ნაწლავური ინფექციების მკურნალობა წარმოადგენს კომპლექსურ ღონისძიებათა ერთობლიობას და მოიცავს პათოგენურ თერაპიას - პირველ რიგში დეზინტოქსიკაციას. მკურნალობა მიმართულია დაავადების აღმძვრელის ინაქტივაციისაკენ, ამასთან მკურნალობის პროცესში არ უნდა იქნას დარღვეული ის მიკრობული ბალანსი, რაც შემდგომში განაპირობებს ორგანიზმის ნორმალურ ცხოველმყოფელობას.

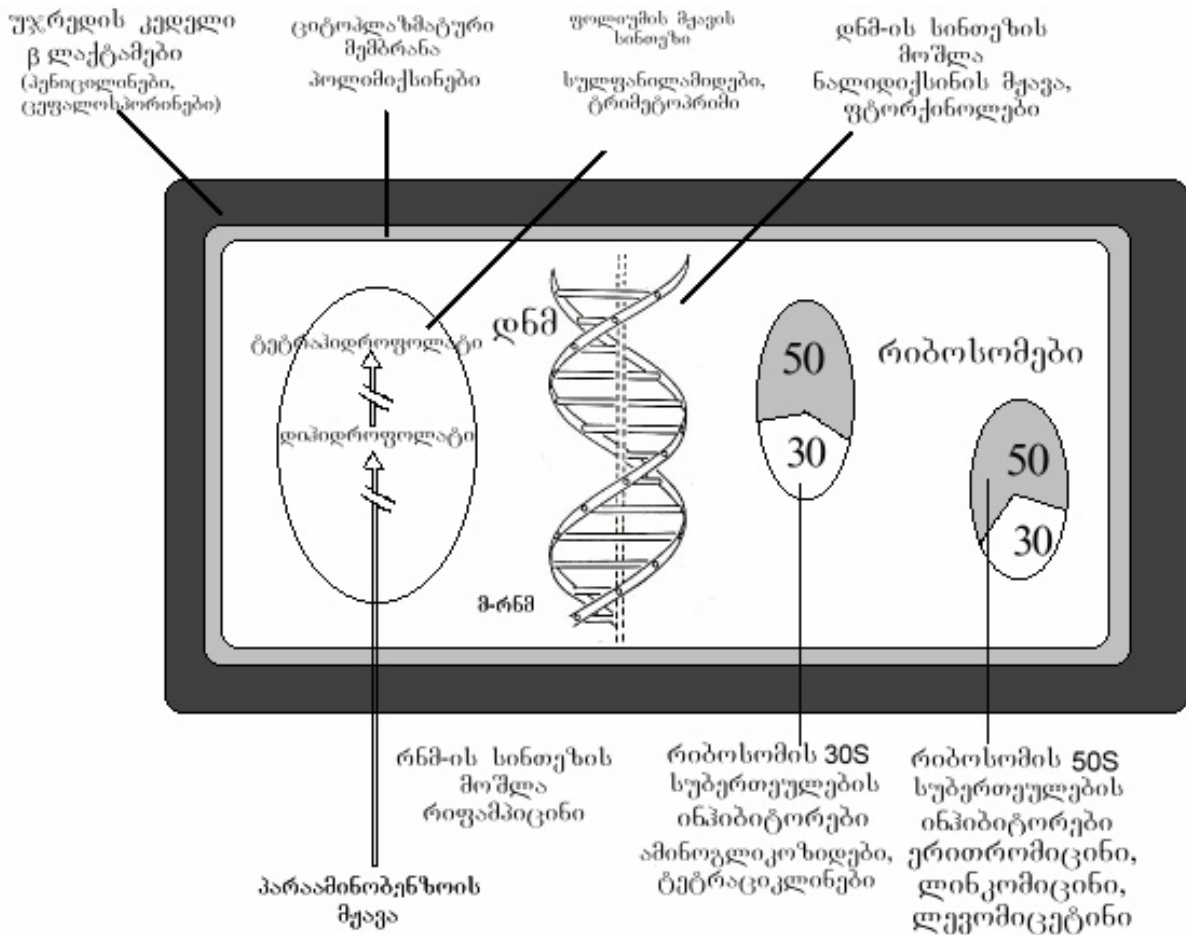
ანტიმიკრობული პრეპარატები, რომლებიც გამოიყენებიან სხვადასხვა დაავადებათა სამკურნალოდ იყოფიან 2 ჯგუფად. I ჯგუფს მიეკუთვნებიან ის საშუალებები, რომლებიც ორგანიზმში მოხვედრისას ანტიმიკრობულ ეფექტს ავლენენ მხოლოდ ნაწლავის მოცემულ უბანში და არ გააჩნიათ რეზორბციული თვისებები. II ჯგუფს კი მიეკუთვნებიან ის სამკურნალო საშუალებები, რომლებიც კარგად შეიწოვებიან წვრილი ნაწლავის მიერ, ახდენენ სისტემურ მოქმედებას და ამასთან ერთად აღწევენ თერაპევტულ კონცენტრაციას ნაწლავის შიგთავსში, მაგალითად - ციპროფლოქსაცინი.

სამკურნალო საშუალების შერჩევისათვის პირველ რიგში უნდა იქნეს გათვალისწინებული აღმძვრელის მგრძობელობა ამა თუ იმ სამკურნალო საშუალებისადმი. მსოფლიო ლაბორატორიული სტანდარტების მიხედვით (NCCLS) ანტიმიკრობული საშუალება მაშინ შეიძლება გამოყენებული იქნას მკურნალობისათვის, როდესაც შტამების 80% მგრძობიარეა აღნიშნული პრეპარატისადმი.

არსებობს ბაქტერიების მედიკამენტების მიმართ რეზისტენტობის ორი ტიპი: ბუნებრივი და შეძენილი. ბუნებრივი რეზისტენტობა სახეობრივ ნიშან-თვისებას წარმოადგენს. იგი ახასიათებს მოცემული სახეობის ყველა წარმომადგენელს, არ არის დამოკიდებული პირველად კონტაქტზე, რომელიმე კონკრეტულ ანტიბიოტიკთან და რეზისტენტობას საფუძვლად არ უდევს რაიმე სპეციფიკური მექანიზმი [Martínez, 2012].

სურათზე თვალნათლივანაა წარმოჩენილი სხვადასხვა ჯგუფის ანტიბიოტიკების მოქმედების მექანიზმი და სამიზნეები, რომელთა უშულო დესტრუქციით მიიღწევა ბაქტერიოციდული ეფექტი.

სხვადასხვა ანტიმიკრობული პრეპარატის მოქმედების მექანიზმები



რეზისტენტობის შეძენა ბაქტერიებს ძალიან დიდ უპირატესობას ანიჭებს. შეძენილი რეზისტენტობა მედიკამენტების მიმართ ახასიათებს მოცემული სახეობის ბაქტერიების ცალკეულ წარმომადგენლებს. რეზისტენტობის ეს სახე უკავშირდება ბაქტერიის გენომის ცვლილებებს, ამათგან ერთი უკავშირდება ბაქტერიის ქრომოსომაში კონკრეტული გენების მუტაციას, რის შედეგადაც ამ გენის პროდუქტი გადის ანტიბიოტიკის მოქმედების ფარგლებიდან. ეს ხდება ან ცილის სტრუქტურის ცვლილების შედეგად, ან იმის გამო, რომ ცილა მიუღწეველი ხდება ანტიბიოტიკისათვის. სხვა შემთხვევაში ბაქტერია ხდება ანტიბიოტიკის (ან რამოდენიმე ანტიბიოტიკისადმი) მიმართ რეზისტენტული იმ გენების წყალობით, რომლებიც R-პლაზმიდებშია ლოკალიზებული და მათ რეზისტენტობის გავრცელებაში გადამწყვეტი როლი ენიჭებათ [Craig W, 2002].

განსაკუთრებულ შემოფოთებას იწვევს ანტიბაქტერიული საშუალებების მიმართ რეზისტენტული სალმონელას შტამების წარმოქმნის მზარდი ტენდენცია. როგორც ცნობილია, ანტიბიოტიკების აღმოჩენიდან ხდება მათი გამოყენება როგორც დაავადების სამკურნალოდ, ასევე პროფილაქტიკისათვის. ანტიბიოტიკების ფართო და

ხშირად უსაფუძვლო გამოყენება იწვევს ანტიბიოტიკების მიმართ ბუნებრივი და შექმნილი რეზისტენტობის მქონე პათოგენების გავრცელებას. ხშირად ადამიანებში დაავადების გამომწვევი პოლირეზისტენტული შტამები პირდაპირ კავშირში არიან ცხოველებში ცირკულირებად შტამებთან. ამგვარი პათოგენების არსებობა პრობლემატურია არა მხოლოდ ცხოველების ჯანმრთელობის თვალსაზრისით, არამედ მათი, როგორც საკვებით გამოწვეული პათოგენების შესაძლო ტრანსმისიის შესაძლებლობის გამო ადამიანებში. აშკარა მაგალითია მრავლობითრეზისტენტული სალმონელას ფაგოტიპ *Salmonella typhimurium* DT104-ის ფართო გავრცელება. ეს მიკრობი რეზისტენტულია ხუთი ხშირად ხმარებადი ანტიბიოტიკის მიმართ [Boyd D, et. al. 2002].

სალმონელოზების მკურნალობა დაკავშირებულია დიდ სიძნელებთან. ანტიბიოტიკები, რომლებიც მასიურად გამოიყენება სხვადასხვა ინფექციური დაავადებების სამკურნალოდ, ამ დაავადებათა შემთხვევაში იძლევა მხოლოდ დროებით ეფექტს და შემდგომში რეინფექციის მიზეზად გვევლინება [Zhao S, et. al. 2006].

მეცნიერთა წინაშე დადგა საკითხი სალმონელოზების მკურნალობის ახალი გზების ძიებისა, რომელიც არ გამოიწვევს ორგანიზმზე მოქმედებისას უარყოფით მოვლენებს. ამას თან ერთვის R პლაზმიდებით ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გავრცელების საკითხი მრავლობითი რეზისტენტობის მქონე შტამებიდან მგრძობიარე შტამებზე, რითაც განპირობებულია მდგრადობა ერთდროულად რამოდენიმე დასახელების ანტიბიოტიკების მიმართ [Gupta A, et. al. 2003].

სალმონელოზების მკურნალობა დიდ სიძნელებს აწყდება იმ კუთხითაც, რომ სალმონელოზებს თან ახლავს თანმხლები მიკროფლორა, რომელიც ართულებს მკურნალობას ვინაიდან ის ანტიბიოტიკები და სულფანილამიდური პრეპარატები, რომლებიც მოქმედებენ მიკროორგანიზმთა ერთ ჯგუფზე (*E. coli*, *Sh. sonnei*, *Sh. flexneri*) არ მოქმედებენ მეორე, რაიმე კონკრეტული ჯგუფის მიკრობზე. ეს გარემოება კი მოითხოვს დამატებით ახალი სამკურნალო პრეპარატის მოძიებას, რაც პირდაპირპროპორციულად ზრდის ანტიბიოტიკოთერაპიის ღირებულებას.

მეცნიერთა მონაცემებით [Keresელიძე M, 2005; de Alwis M, 1996; Essler M, et. al. 1998], სალმონელოზებით დაავადებული ცხოველებიდან და ფრინველებიდან გამოყოფილი მიკრობული ფლორა მგრძობელობის სხვადასხვა დონით ხასიათდებოდა ისეთი ანტიმიკრობული საშუალებებისადმი, როგორცაა ნეომიცინი, პოლიმიქსინი, სტრეპრომიცინი, ტეტრაციკლინი, გენტამიცინი, ენროფლოქსაცინი, ფურაზოლიდონი, აპრამიცინი.

ამ მონაცემით *Salmonella enteritidis* ყველაზე მგრძობიარე აღმოჩნდა აპრამიცინისადმი, რაც ეთანხმება რიგ მეცნიერთა [Cruchaga S, et. al. 2001; Oliveira K, et. al. 2006] მონაცემებს, რომლის თანახმად სალმონელების 100% მგრძობიარეა ამ ანტიბიოტიკისადმი.

განვითარებულ ქვეყნებში აღინიშნება სალმონელოზების აფეთქება, რომელიც გამოწვეულია სალმონელების არატიფოზური სეროტიპებით. ასეთი შტამების მკურნალობა ფტორქინოლებით მაღალ ეფექტს იძლეოდა, მაგრამ დროთა განმავლობაში მისი აქტივობა საგრძობლად დაეცა [Albayrak F, et. al. 2004]. მათ მიერ ჩატარებულმა ცდებმა, რომელიც მოიცავდა *Salmonella*-ს 73 შტამს დაადასტურა ეს ტენდენცია.

დღეისათვის ნაწლავური ინფექციების ეთიოტროპული მკურნალობისათვის, სამკურნალწამლო რეზისტენტობის გათვალისწინებით, წარმატებით გამოიყენება ფტორქინოლების ჯგუფის პრეპარატები, რომელთა ეფექტურობაც ნაწლავური ინფექციების დროს და მათ შორის სალმონელოზების დროს მაღალია.

1962 წელს სამედიცინო პრაქტიკაში ფტორქინოლების - (ნალიდიქსინის მჟავა და მისი ანალოგები) გამოყენებამ აჩვენა ამ ჯგუფის პრეპარატების ეფექტურობა სალმონელოზებისა და დეზინტერიის მკურნალობაში [Howard A, et. al. 1990]. თუმცა ამ პრეპარატების მასიური გამოყენება მაინც არ იყო რეკომენდირებული, ვინაიდან ამ ფაქტორმა ხელი შეუწყო უმნიშვნლოდ, მაგრამ მაინც წარმოშობილიყო ამ ჯგუფის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული შტამები [AitMhand R, et. al. 2002].

გარდა ამისა კიდევ ერთ პრობლემას წარმოადგენდა ის, რომ სპეციფიკური ფარმაკოკინეტიკის გამო ფტორქინოლები ვერ გამოიყენებოდნენ გენერალიზებული პროცესის ლოკალიზაციისათვის და ამის გამო არ იყო ეფექტური მუცლის ტიფის, პარატიფის და საერთოდ, სალმონელოზების სამკურნალოდ, მიუხედავდ იმისა, რომ ექსპერიმენტში *in vitro* საკმაოდ კარგი შედეგებით ხასიათდებოდა.

ანტიბაქტერიული თერაპიის ჩატარება და მიკროორგანიზმთა მიმართ მგრძობელობის განსაზღვრა იყოფა 2 ეტაპად: I ეტაპი მოიცავს მგრძობელობის განსაზღვრას იმ ანტიბიოტიკებისადმი, რომელიც ყველაზე ხშირად გამოიყენება სამედიცინო პრაქტიკაში. II ეტაპი კი მოიცავს დამატებით შესწავლას, როგორც I კატეგორიის პრეპარატების, ისე მეორე კატეგორიისას.

არსებული ინფორმაცია მეტყველებს იმაზე, რომ ანტიბაქტერიული თერაპიის კლინიკური ეფექტურობა მისი ფენოტიპური განსაზღვრით (ანტიბიოტიკოგრამებზე დაყრდნობით) ნაკლებ ეფექტურია, ვიდრე პროგნოზირება მისი გენოტიპური გამოვლენის საშუალებით (რეზისტენტობის დეტერმინანტების განსაზღვრა) [Biswas B, et. al. 2002]. მაგრამ უნდა აღინიშნოს, უშუალოდ რეზისტენტობის გენების დეტექცია ხშირ შემთხვევაში ვერ ტარდება, მისი შედარებით რთული მეთოდის გამო. ზოგ შემთხვევაში გენოტიპირება შეიძლება ჩანაცვლებული იქნას ანტიბიოტიკოგრამებით, რომლებიც წარმოადგენენ მარკერებს ამა თუ იმ რეზისტენტობის მექანიზმის განსაზღვრისათვის.

აღნიშნული მეთოდის თვალსაჩინოებას წარმოადგენს ოქსაცილინის გამოყენება, როგორც რეზისტენტობის მარკერი *Stapylcococcus spp.* შტამებისათვის [Olsen S, et. al. 2001]. პრაქტიკაში ცნობილია მდგომარეობები, როდესაც საკვლევი მიკროორგანიზმი რეზისტენტულია ოქსაცილინისადმი, მაგრამ მგრძობიარეა სხვა β -ლაქტამური ანტიბიოტიკებისადმი. მოცემულ შემთხვევაში პრიორიტეტი ენიჭება შედეგებს, რომელიც მიღებულია ოქსაცილინის ტესტირებით [Chiu C, et. al. 2004].

შემდეგ მნიშვნელოვან თავისებურებად, რომელიც შეიძლება გათვალისწინებული იქნას ანტიბაქტერიული თერაპიის დასადგმელად, წარმოადგენს ჯვარედინი რეზისტენტობის კანონზომიერებები.

ენტერობაქტერიების გვარის მიკროორგანიზმები ხასიათდებიან მთელი რიგი თავისებურებებით, რომელიც გასათვალისწინებელი უნდა იყოს სალმონელოზური ინფექციების სამკურნალოდ.

საერთოდ ნაწლავური ინფექციების - სალმონელოზების მკურნალობის საფუძველს წარმოადგენს β -ლაქტამური ანტიბიოტიკები. β -ლაქტამური ანტიბიოტიკების ალტერნატივად მიიჩნევა ამინოგლიკოზიდები და ფტორქინოლები.

სალმონელოზების მკურნალობას და ზოგადად ნაწლავური ინფექციების მკურნალობას დიდი სიფრთხილით უნდა მივუდგეთ, ვინაიდან ნაწლავებში პათოგენურ მიკროფლორასთან ერთად ბინადრობს საპროფიტი და პირობით-პათოგენური მიკროორგანიზმები, რომელთა რაოდენობა დაბალანსებულია და მათი პროცენტული თანაფარდობის მოშლის შედეგად იწყება არასასურველი პროცესები, რომლებიც ცნობილი არიან დისბაქტერიოზის და ასოცირებული დიარეის სახელწოდებით. ამიტომ ემპირიული ანტიბიოტიკოთერაპიის დაწყებისაგან თავი უნდა შევიკავოთ, ვინაიდან საკითხისადმი ასეთი მიდგომა განაპირობებს ანტიბიოტიკორეზისტენტობის პრობლემის არსებობას. ამის გამო სალმონელოზის მკურნალობა დაკავშირებულია დიდ სიძნელებთან. ანტიბიოტიკები, რომლებიც მასიურად გამოიყენება სხვადასხვა ინფექციური დაავადებების სამკურნალოდ, ამ დაავადებათა შემთხვევაში იძლევა მხოლოდ დროებით ეფექტს და შემდგომში რეინფექციის მიზეზად გვევლინება.

ამრიგად, ბუნებაში არსებობს რეალური შესაძლებლობა იმისა, რომ ბაქტერიებმა შეიძინონ რეზისტენტობა ანტიბიოტიკების მიმართ და საკმაოდ მოკლე ხანში შეეგუონ ახალ ანტიმიკრობულ მედიკამენტებს. ანტიბიოტიკების საწინააღმდეგოდ ბაქტერიებმა გამოიმუშავეს უნიკალური ბიოლოგიური რეაქციები, რომლებიც სერიოზულ წინააღმდეგობას უწევენ ბაქტერიების მოსასპობად გამიზნულ ქიმიურ პრეპარატებს. ყოველ ახალ ანტიბიოტიკზე ბაქტერიები იძლევიან ადექვატურ პასუხს, კერძოდ ჩნდება ამ ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტული შტამები, რომლებიც პრეპარატის ბიოლოგიურ აქტივობას ფაქტობრივად უშედეგოს ხდის [Gelband H, et. al. 2015].

ამ სიტუაციაში განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია გაირკვეს, თუ რა პერსპექტივა აქვს ახალი ანტიბიოტიკებისა და სამკურნალო საშუალებების ძიებას. საკითხავია, თუ რა თვისებები უნდა გააჩნდეს ახალ მედიკამენტს, რათა მან დაძლიოს ბაქტერიების თავდაცვითი მექანიზმი. დღეისათვის სასურველია ისეთი ანტიბიოტიკების ძიება, რომლებსაც: აქვთ ახლებური მოლეკულური სტრუქტურა ან ისეთი განსხვავებული სამიზნე ბაქტერიულ უჯრედში, რომელიც იმავდროულად არ არსებობს ეუკარიოტულ უჯრედში ან თუ არის, კარგადაა დაცული ამ ანტიბიოტიკისაგან; გააჩნიათ ბაქტერიულ უჯრედში შეჭრის ახალი მექანიზმი, არ ახასიათებთ მგრძობელობა დამცავი ფერმენტების მიმართ და არც მათ სინთეზს იწვევენ.

1.4. ბიოფილმების წარმოქმნა

მიკროორგანიზმებს აქვთ უნარი საკვებ პროდუქტებზე და სხვადასხვა ზედაპირებზე წარმოქმნან ბიოფილმები [Giaouris E, et. al. 2012]. ბიოფილმების ფორმირებისას ფორმირდება ექსტრაუჯრედული მატრიქსი, რომელიც შედგება ეგზოპოლისაქარიდებისგან, პროტეინებისგან, ნუკლეინის მჟავისა და სხვა ნივთიერებებისგან [Branda S, et. al. 2005]. ექსტრაუჯრედული მატრიქსი ბაქტერიებს გარემო პირობებისგან იცავს. ასეთ პირობებში ისინი კარგად უძლებენ ჩამორეცხვას, pH-ის ცვლილებებს, ანტიბიოტიკებისა და დეზინფექტანტების ზემოქმედებას [Algirdas J, et. al. 2003]. რეზისტენტობის მექანიზმები შეიძლება იყოს: მატრიქსში ანტიმიკრობული აგენტის შეჭრის შეფერხება; ბიოფილმებში მიკროორგანიზმების ზრდის

თავისებურებები და ბიოფილმებში რეზისტენტული ფენოტიპების სუბპოპულაციების ე.წ. „persisters“ არსებობა [Donlan R, et. al. 2002; Gilbert P, et. al. 2002].

კვების წარმოებაში განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება ბიოფილმებს, რადგანაც ისინი აკუმულირდებიან საკვებ პროდუქტებზე, ჭურჭელზე და საკვები პროდუქტების შეხების ზედაპირებზე, რაც შესაძლებელია გახდეს საკვები პროდუქტების კონტამინაციის წყარო და გამოიწვიოს როგორც ჰიგიენური პრობლემები და საკვებისმიერი დაავადებების გავრცელება, ასევე საკვების გაფუჭების შედეგად მიღებული ეკონომიკური ზარალი [Brooks J, et. al. 2008; Lindsay D, et. al. 2006]. საკვები პროდუქტების დაბინძურება შესაძლებელია არაჰიგიენურად დამუშავებული ზედაპირებიდან ან კონტამინირებულ ჭურჭელში მოთავსებული აეროზოლიდან. დღეისათვის არ არსებობს მდიდარი მონაცემები კვების წარმოების პროცესში ბიოფილმებში სალმონელების არსებობის შესახებ, თუმცა ლაბორატორიული ცდებით დადასტურებულია, რომ სალმონელებს აქვთ უნარი წარმოქმნან ბიოფილმები სხვადასხვა ზედაპირებზე - მინაზე, პლასტმასზე, უჟანგავ ფოლადზე და სხვა [Chia T, et. al. 2009; Giaouris E, et. al. 2005; Marin C, et. al. 2009; Oliveira K, et. al. 2006; Rodrigues D, et. al. 2011]. ასეთი ზედაპირები, სადაც ხდება ბიოფილმების წარმოქმნა უმეტეს შემთხვევებში აღინიშნება მეცხოველეობისა და მეფრინველეობის ფაბრიკებში, კვების წარმოებაში და საოჯახო სამზარეულოებში, რაც საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის დიდ რისკთან არის დაკავშირებული.

ბიოფილმებზე პირველი დაკვირვება მოახდინა ანტონ ვან ლევენჰუკმა 1674 წელს, როდესაც თავისი პრიმიტიული, მაგრამ ეფექტური მიკროსკოპით აკვირდებოდა ადამიანის კბილის ნადებში არსებულ ორგანიზმებს [Costerton J, 1999]. 1966 წელს იქნა გამოვლენილი საკვებისმიერი დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმების, კერძოდ სალმონელების მიერ საკვები პროდუქტების ზედაპირზე ბიოფილმების წარმოქმნის პროცესი [Duguid J, et. al. 1966]. მას შემდეგ მრავალი მონაცემები იქნა წარმოდგენილი სხვადასხვა საკვებისმიერი პათოგენების მიერ სხვადასხვა ზედაპირებზე ბიოფილმების წარმოქმნის შესახებ, მათ შორის *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*. [Chia T, et. al. 2009; Kim T, et. al. 2008; Joshua G, et. al. 2006; Habimana O, et. al 2010].

ბიოფილმების სტრუქტურა დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე: მიკროორგანიზმების შემადგენლობა და მათი ფიზიოლოგიური მდგომარეობა, გარემო არე, იმ ზედაპირების თვისებები, სადაც მიმდინარეობს ბიოფილმის ფორმირება [Sutherland I, 2001].

ბიოფილმების შესწავლა თანამედროვე მკვლევართა დიდ ინტერესს წარმოადგენს. ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი გააჩნიათ როგორც ერთი სახის მიკროორგანიზმებს, ასევე სხვადასხვა სახის მიკროორგანიზმებს და წარმოადგენს მრავალი მიკროორგანიზმის სასიცოცხლო ციკლის შემადგენელ ნაწილს.

დადგენილია, რომ 80%-ზე მეტ შემთხვევებში ორგანიზმში მიმდინარე ინფექციური დაავადებები მიმდინარეობს ბიოფილმებით გამოწვეული ინფექციების ფორმით. გარდა ამისა, ბევრი ქრონიკული ინფექციები, რომლებიც გამოწვეულია სამედიცინო იარაღების გამოყენებით (ლინზეები, კათეტერები, პროთეზები, გულის ხელოვნური სარქველები), ბაქტერიებს შესწევთ უნარი მათ ზედაპირზე წარმოქმნან ბიოფილმები [Davey M, et. al. 2000].

ბიოფილმებში პათოგენური მიკროორგანიზმები ასევე წარმოადგენენ საკვებისმიერი დაბინძურების მთავარ წყაროს. ბაქტერიების მოხვედრა საკვებ პროდუქტებში ან მათ ზედაპირზე იწვევს საკვების გაფუჭებას და ეკონომიკურ ზარალს. გარდა ამისა, არსებობს მრავალი მონაცემები საკვებისმიერი ტოქსიკოინფექციების გამომწვევი რამოდენიმე პათოგენური მიკროორგანიზმის მუდმივად არსებობის შესახებ საკვები პროდუქტების სხვადასხვა ზედაპირებთან შეხების ადგილებში. ითვლება, რომ ბიოფილმების არსებობა კვების სისტემაში წარმოადგენს ჯანმრთელობისთვის სერიოზულ რისკს. მრავალი საკვებისმიერი ინფექციების აფეთქებები დაკავშირებულია ბიოფილმებთან და მდგრადობა ანტიმიკრობული აგენტების მიმართ წარმოადგენს დიდ პრობლემას კვების წარმოებაში [Trachoo N, 2003; Srey S, et. al. 2013; Xianming S, 2009].

ბიოფილმების სახით ბაქტერიებს გააჩნიათ არსებობისა და ცხოველქმედებისათვის უფრო ხელსაყრელი პირობები, ვიდრე ცალკე უჯრედის სახით, რაც წარმოადგენს დაცვას გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორების მიმართ. ბიოფილმების ფორმით არსებული ბაქტერიები გამოირჩევიან ანტიბიოტიკებისა და სხვა სამკურნალო პრეპარატების მიმართ მაღალი მდგრადობით, რაც ართულებს პათოგენური მიკროორგანიზმებით გამოწვეულ ინფექციებთან ბრძოლას. ანტიმიკრობული აგენტის კონცენტრაცია, რომელიც ამცირებს ზრდას, შესაძლებელია 1000-ჯერ აღემატებოდეს თავისუფლად მცხოვრები ბაქტერიისთვის საჭირო დონეს [Lewis K, 2008; Høiby N, 2010].

კვების წარმოების პროცესში საკვების კომპონენტების შემცველი სითხის შეხება სხვადასხვა ზედაპირებზე, განაპირობებს საკვები პროდუქტების მოლეკულების ადსორბციას ამ ზედაპირზე. სწორედ, საკვები არე და ზედაპირის მდგომარეობა იყო განმსაზღვრელი *S. typhimurium*-ის უჯრედების დაკავშირებისა უქანგავ ფოლადზე. 122 სალმონელას შტამზე ჩატარებული ცდებით გამოვლინდა, რომ ყველა მათგანს ჰქონდა პლასტმასის ზედაპირებზე ადჰეზიის უნარი და ასევე მნიშვნელოვანია ის, რომ დაბალი საკვები პირობების შემთხვევაში წარმოიქმნებოდა უფრო მეტი რაოდენობის ბიოფილმები [Stepanović S, et. al. 2004]. ექსპერიმენტმა, რომელიც ჩატარდა მეფრინველეობის ფაბრიკებში სალმონელების მიერ გამოწვეული კონტამინაციის რისკ ფაქტორების გამოსავლენად, აჩვენა, რომ ყველაზე მნიშვნელოვან რისკ ფაქტორებს წარმოადგენდა მტვერი, სხვადასხვა ზედაპირები და ფეკალიები. აგრეთვე, გამოყოფილი სალმონელას შტამების 50%-ს ჰქონდა ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი [Marin C, 2009].

სხვადასხვა ავტორების კვლევებით დადგინდა, რომ ბაქტერიების ადჰეზია სხვადასხვა ზედაპირებზე და ბიოფილმების წარმოქმნა დაკავშირებულია მიკრობის უჯრედის კედლისა და მემბრანის პროტეინებზე, ფიმბრიებზე, ფლაგელებსა და პოლისაქარიდებზე [Chia T, et. al. 2009; Oliveira K, et. al. 2006].

ბიოფილმების წარმოქმნის მექანიზმების შესწავლა და მათი დეკონტამინაციის მეთოდების შემუშავება მნიშვნელოვანია კვების წარმოებაში საკვები პროდუქტების კონტამინაციის თავიდან ასაცილებლად.

კვების წარმოების პროცესში გარემოში იქმნება ბიოფილმების ფორმირებისათვის ხელსაყრელი პირობები. მაგალითად, ტენიანობის, საკვები ნივთიერებების და უმ საკვებ პროდუქტებზე არსებული მიკროორგანიზმების არსებობა. ასეთი ბიოფილმი არის საკვების კონტამინაციის პოტენციური წყარო, რაც იწვევს საკვების გაფუჭებას ან პათოგენური მიკროორგანიზმების გადაცემას [Gunduz G, et. al. 2006].

ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი გააჩნიათ *Salmonella* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* and *Listeria* spp. გვარის მიკროორგანიზმებს. ამ ბაქტერიებს ენიჭებათ განსაკუთრებული მნიშვნელობა მზა და ნაკლებად დამუშავებულ საკვებ პროდუქტებში, რადგანაც დამუშავების საბოლოო ეტაპზე არ მიმდინარეობს მიკრობიოლოგიური კონტროლი. აგრეთვე ბაქტერიების კოლონიზაცია წარმოადგენს ძირითად საფრთხეს კვების პროდუქტების საწარმოო დანადგარების ზედაპირების დაზიანებისა (კოროზია) [Kim H, et. al. 2006].

ბაქტერიების კოლონიზაცია მყარ ზედაპირებზე წარმოადგენს მრავალსაფეხურიან პროცესს, რომელიც მოიცავს ფიზიკო-ქიმიურ და ბიოლოგიურ ფაქტორებს. ბიოფილმების ძირითად სტრუქტურულ კომპონენტს წარმოადგენს არაუჯრედული პოლიმერული ნაერთი (მატრიქსი), ხოლო თვით ბაქტერიები შეადგენენ ბიოფილმის მასის 5-35%-ს. მატრიქსის შემადგენლობაში შედის ისეთი ნაერთები, როგორც არის ლიპოპოლისაქარიდები, გლიკოპროტეიდები, პროტეოგლიკანები, ნუკლეინის მჟავები და სხვა ნაერთები, რომლებიც შედიან ბაქტერიული უჯრედის კედლის შემადგენლობაში. მატრიქსი განვლადია არხებით, რომლის მეშვეობითაც ცირკულირებს საკვები ნივთიერებები, ფერმენტები, ჟანგბადი და სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანი ნაერთები [Donlan R, et. al. 2002].

ბიოფილმების ფორმირება შეიძლება აღიწეროს როგორც 5 საფეხურიანი პროცესი [Jefferson K, 2004; van Houdt R, et. al. 2005]:

1. პლანქტონური მიკროორგანიზმების საწყისი შექცევადი დაკავშირება მყარ ზედაპირებზე;
2. შექცევადიდან შეუქცევად კავშირზე გადასვლა ბაქტერიების მიერ ექსტრაუჯრედული პოლიმერების წარმოქმნით;
3. ბიოფილმის საწყისი სტრუქტურის ჩამოყალიბება;
4. მიკროკოლონიების განვითარება ფორმირებულ ბიოფილმებად;
5. ბიოფილმებიდან უჯრედების დისპერსია გარემო არეში.

ბიოფილმების ფორმირება იწყება ერთეული უჯრედების დაკავშირებით აბიოტურ ზედაპირებზე. ეს პროცესი არის დროზე დამოკიდებული და შეიძლება დაიყოს ორ ფაზად: შექცევადად და შეუქცევადად. შექცევადი ადჰეზია იწყება, როდესაც ბაქტერია გარკვეულ მანძილზე (2-50 ნმ) უახლოვდება ზედაპირს ვან დერ ვაალსის და ელექტროსტატიკური ძალებით. ამავე დროს ელექტროსტატიკური ურთიერთქმედება ხელს უწყობს ურთიერთგანზიდვას, რადგანაც მრავალი ბაქტერია და ზედაპირები არიან უარყოფითად დამუხტული [Miron J, et. al. 2001].

ბიოფილმების ფორმირების პროცესში დიდი მნიშვნელობა აქვს მყარი მასალის თვისებებს, ჰიდროფობობას, უჯრედის ზედაპირს, ექსტრაუჯრედული პოლიმერების ნივთიერებებს და გარემო ფაქტორებს [Cabanes D, et. al. 2002; Myszka K, et. al. 2007].

ბიოფილმების ფორმირებისას გადამწყვეტ მომენტს წარმოადგენს ბაქტერიების ადჰეზიის პროცესი ზედაპირზე შემდგომი კოლონიზაციისათვის. გამოყოფენ ადჰეზიის მექანიზმების 2 ჯგუფს: არასპეციფიკურს და სპეციფიკურს. არასპეციფიკური ადჰეზია განპირობებულია ბაქტერიის ზედაპირებთან ფიზიკურ-ქიმიური ფაქტორების ურთიერთქმედებით. მათ მიეკუთვნება ელექტროსტატიკური და ჰიდროფობული ურთიერთქმედება, ვან დერ ვაალსის ძალები და ბროუნის მოძრაობა. არასპეციფიკური

ადჰეზია, როგორც წესი, შექცევადია. სპეციფიკური ადჰეზია ხორციელდება მოლეკულური ურთიერთქმედების შედეგად მიკრობული უჯრედის ადჰეზინსა და პატრონ უჯრედის რეცეპტორს შორის. ადჰეზინებში ითვლება მიკრობული უჯრედის ზედაპირული სტრუქტურები და მის შემადგენლობაში შემავალი მაკრომოლეკულები, ძირითადად ცილები, რომელთა მეშვეობითაც ხორციელდება მიმაგრება ზედაპირებთან. რეცეპტორად ითვლება სტრუქტურები, რომლებიც არიან ადჰეზინის კომპლემენტარული და მდებარეობენ ეუკარიოტული უჯრედის ზედაპირზე. ადჰეზინის პროცესში რეცეპტორის ფუნქციას ასრულებენ კარბოჰიდრატები ან ეუკარიოტული უჯრედის მემბრანაზე განლაგებული პეპტიდური ფრაგმენტები [Parkins M, et. al. 2001].

ბიოფილმების ფორმირება პათოგენური მიკროორგანიზმების მიერ დამოკიდებულია მათ ვირულენტობის ფაქტორებზე, როგორც არის ფლაგელა, პილი, ევზოტოქსინი-A, ლიპოპოლისაქარიდები, რომლებიც მონაწილეობენ ბიოფილმების ფორმირებაში [Lindsay D, et. al. 2006].

მიკროორგანიზმები ბიოფილმების სახით უფრო მდგრადი არიან სხვადასხვა სადებიზინფექციო ნაერთების მიმართ, ვიდრე ცალკეული უჯრედული სახით და დებიზინფექციის შედეგად გადარჩენილი ცოცხალი უჯრედები შეიძლება გახდეს საკვების დაბინძურების და საკვებისმიერი დაავადებების განვითარების წყარო.

დიდ პრობლემას წარმოადგენს ბიოფილმების გაუვნებელოება, რადგანაც ისინი ავლენენ რეზისტენტობას სხვადასხვა სადებიზინფექციო საშუალებების მიმართ, აგრეთვე ბიოფილმებში შემავალმა უჯრედებმა შეიძლება მდგრადობა გამოავლინონ ულტრაიისფერი სხივების, დეჰიდრატაციის, ფაგოციტოზის და მეტალი ტოქსიურობის მიმართ. ბიოფილმების მგრძობელობა ანტიმიკრობული აგენტების მიმართ დაკავშირებული ბიოფილმების ასაკზე, ამიტომ მეტად მნიშვნელოვანია მათი გაუვნებელოება ფორმირების საწყის ეტაპზე [Hall-Stooley L, et. al. 2004; Hall-Stooley L, et. al. 2005; Jefferson K, 2004].

დადგენილია, რომ მიკრობული ბიოფილმები არიან პასუხისმგებელი მრავალი მწვავე და ქრონიკული ანთებითი დაავადების ეტიოლოგიასა და პათოგენეზზე. ამერიკის დაავადებათა კონტროლის ეროვნული ცენტრის მონაცემებით ადამიანის ინფექციური პათოლოგიების 80% დაკავშირებულია ბიოფილმებთან [Harriott M, 2009].

ბიოფილმებთან დაკავშირებული ინფექციების მკურნალობა დიდ სირთულეებთან არის დაკავშირებული. ეს გამოწვეულია იმით, რომ ბიოფილმების შემადგენლობაში ბაქტერიები, პლანქტონურ მიკროორგანიზმებთან შედარებით, იძენენ ახალ თვისებებს, რაც გულისხმობს ბიოფილმებში ბაქტერიების დაცვას სტრესული ზემოქმედებისგან, მათ შორის ანტიბიოტიკების, დებიზინფექტანტების და ადამიანის იმუნური სისტემის მიმართ მდგრადობა [Golub A, 2012].

სხვადასხვა შრომებით დადგენილია, რომ ბიოფილმებში ბაქტერიებს შესწევთ უნარი პლაზმიდების მიმოცვლის, რომლებიც შეიცავენ ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტულ გენებს [Harriott M, 2009; Chatterjee A, 2002; Duan K, 2003].

ბიოფილმების მიერ სტრესული ზემოქმედების მიმართ რეზისტენტობა გამოწვეულია სხვადასხვა ფაქტორებით:

1. ბიოფილმებში ანტიბაქტერიული პრეპარატების შეღწევადობის შემცირება. მატრიქს, რომლითაც შემოსაზღვრულია ბაქტერიული უჯრედები, უნდა დაუკავშირდეს ან არ გაატაროს, ან მოახდინოს ანტიბიოტიკების ინაქტივაცია. მაგალითად, *P. aeruginosa*-ს შტამების მიერ წარმოქმნილი ბიოფილმები ახდენენ ანტიბიოტიკების

ინაქტივაციას, რადგანაც მათ გააჩნიათ β-ლაქტამაზის პროდუქციების მაღალი უნარი [Breidenstein E, et. al. 2011].

2. ბიოფილმების წარმოქმნის უნარის მქონე ბაქტერიული უჯრედების განსხვავებული მეტაბოლური აქტივობები. როგორც აღმოჩნდა, ბიოფილმების პერიფერიულ ნაწილში იმყოფებიან მეტაბოლურად აქტიური უჯრედები, ხოლო სიღრმეში - მეტაბოლურად არააქტიური. რამდენადაც ცნობილია, ანტიბიოტიკების მოქმედების სამიზნეს წარმოადგენენ აქტიურად მზარდი უჯრედები, ამდენად, ბიოფილმების სიღრმეში მდებარე უჯრედები რჩებიან დაცულნი ანტიბიოტიკების ზემოქმედებისაგან.

3. ბიოფილმებში ბაქტერიები მიკრობული უჯრედების პოპულაციის ფორმირებით და თავისუფალი ბაქტერიული ზედაპირის შემცირებით რჩებიან სიცოცხლისუნარიანი ანტიბიოტიკების მოქმედების შედეგად და გააჩნიათ პერსისტენციის უნარი. ასეთ უჯრედებს უწოდებენ პერსისტორებს, რომლებიც მდგრადები არიან თითქმის ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ. მათი რაოდენობა ბიოფილმებში მერყეობს 1-10%-მდე.

ასევე ცნობილია გენეტიკური ფაქტორები, რომლებიც განსაზღვრავენ ბიოფილმების მდგრადობას ანტიბაქტერიული პრეპარატების მიმართ [Chebotar I, 2012].

ბიოფილმების შესწავლისათვის მოდელს წარმოადგენს *Pseudomonas aeruginosa*, რომლის მიერ გამოწვეულ ანთებით დაავადებებს ახასიათებთ რთული მიმდინარეობა და მაღალი ლეტალობა. ამ მიკროორგანიზმით გამოწვეული დაავადებები ხასიათდებიან ხანგრძლივი მიმდინარეობით და რთული თერაპიით, რაც განპირობებულია მისი მდგრადობის უნარით. *P. aeruginosa*-ს შესწევს ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი, რასაც მივყავართ ანტიბაქტერიული პრეპარატების მიმართ რეზისტენტობის ზრდაზე, რაც ხელს უწყობს დაავადების გადასვლას ქრონიკულ ფორმაში და ართულებს დაავადების აღმძვრელის სრულ ელიმინაციას [Cunha B, 2002; Drenkard E, 2003; Driscoll J, et. al. 2007].

1.5. ბაქტერიოფაგების გამოყენება

უკანასკნელ წლებში მკვეთრად გაიზარდა ბაქტერიების ანტიმიკრობულ საშუალებათა მიმართ რეზისტენტობა, რომელსაც მზარდი ხასიათი აქვს. ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების შექმნა წარმოადგენს განსაკუთრებულ პრიორიტეტს თანამედროვე მედიცინასა და ბიოტექნოლოგიაში. ფაგების გამოყენებამ პათოგენური მიკროორგანიზმების წინააღმდეგ საკვებ პროდუქტებსა და წყალში, მედიცინასა და ვეტერინარიაში გამოავლინა მაღალი ეფექტურობა, სპეციფიკურობა და მაღალი რენტაბელობა.

დღეისათვის ფართოდ გავრცელებული ანტიმიკრობული მეთოდებით შესაძლებელია მხოლოდ მიკრობული დეკონტამინაციის დონის შემცირება და არა სრული ელიმინაცია. საკვები პროდუქტების დეკონტამინაციის ფიზიკურ და ქიმიურ მეთოდებს, როგორც არის პასტერიზაცია, ორთქლის ვაკუუმით დამუშავება, მაღალი წნევით დამუშავება, ელექტრომაგნიტური, ქლორის შემცველი ქიმიური ნაერთებით, ორგანული მჟავებით დამუშავება და სხვა, დადებით ეფექტთან ერთად ახასიათებთ მავნე და არასასურველი შედეგები. მაგალითად, საკვები პროდუქტების ხარისხის

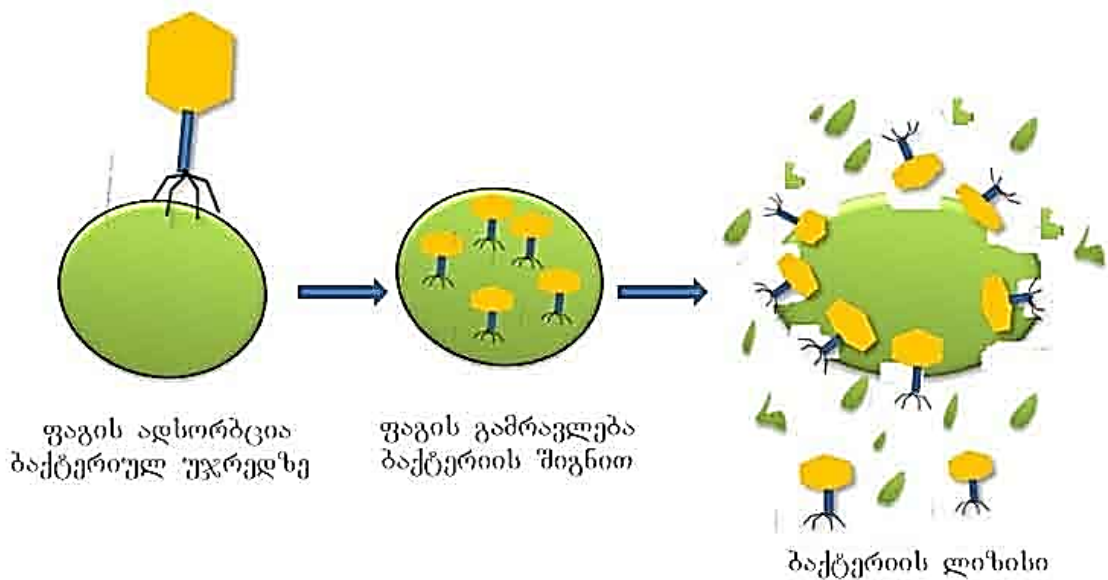
ცვლილება (მაღალი ტემპერატურით და გამოსხივებით დამუშავების შედეგად) და ქიმიური ნაერთებით დამუშავების შემდეგ ქიმიური ნაერთების არსებობა საკვებ პროდუქტებში. ამიტომ განსაკუთრებით გაიზარდა ინტერესი დეკონტამინაციაში ცოცხალი მიკროორგანიზმების, ბაქტერიოფაგების მიმართ [Hudson J, et. al. 2005].

ბაქტერიოფაგები ფართოდ გამოიყენება როგორც კვების უსაფრთხოებაში, ასევე ბაქტერიული დაავადებების წინააღმდეგ ბრძოლაში [Deresinski S, 2009; Sillankorva S, et. al. 2012]. სხვადასხვა კვლევებმა აჩვენა, რომ ფაგების გამოყენებას კვების უსაფრთხოებაში დამაიმედებელი შედეგები აქვს. ფაგების გამოყენება საშუალებას გვაძლევს თავიდან იქნას აცილებული პათოგენური მიკროორგანიზმებით საკვები პროდუქტების კონტამინაცია. საკვები პროდუქტების, წარმოებების, საავადმყოფოების და სხვა ზედაპირების ფაგებით დამუშავებით შემცირდება ინფექციური დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების გავრცელება, რაც ასევე შეამცირებს ადამიანების დაავადებების რისკს.

ბაქტერიოფაგების უპირატესობა ანტიბიოტიკებთან და სულფანილამიდურ პრეპარატებთან მიმართებაში გამოიხატება იმაში, რომ ბაქტერიოფაგების გამოყენება არ იწვევს რეზისტენტული რასების წარმოშობას, ორგანიზმის ინტოქსიკაციას და ქიმიური ნივთიერების აკუმულაციას ორგანიზმში. უპირატესობა გამოიხატება აგრეთვე მათი მოქმედების სპეციფიურობაში. ისინი იწვევენ მხოლოდ ერთი სახის, ანუ თავისივე მსგავსის ლიზისს, (განსხვავებით ანტიბიოტიკებისაგან) და ამასთან ერთად არ თრგუნავენ ნორმალურ მიკროფლორის ცხოველმყოფელობას [Jaewoo B, et. al. 2016].

ფაგები გამოიყენება არამარტო ბაქტერიული დაავადებების მკურნალობისა და პროფილაქტიკისათვის, არამედ ბაქტერიების შტამების იდენტიფიკაციისათვის, ინფექციური დაავადების დიაგნოსტიკის და სეროლოგიურად არადიფერენცირებადი ბაქტერიული შტამების დასახასიათებლად.

ბაქტერიოფაგი. ბაქტერიოფაგი (ბერძ. bacterio ჩხირი, phagos-მშთანთქმელი) ბაქტერიული ვირუსია, რომელიც მრავლდება ბაქტერიების უჯრედებში და იწვევს მათ დაშლას – ლიზისს. ბაქტერიოფაგზე მოძღვრების ფუძემდებელია ნ. გამალეა (1859-1949). მან 1888 წ. გამოხდილი წყლით, *B. anthracis* დამუშავების შედეგად მიიღო ნივთიერება, რომელიც 6-12 საათის განმავლობაში აწარმოებდა ციმბირული წყლულის აღმძვრელის ახალგაზრდა კულტურის გახსნას. ბაქტერიოფაგის ფენომენის ძირითადი კანონზომიერებები 1915 წ. აღწერა ინგლისელმა ფრედერიკ ტუორტმა. მაგრამ ბაქტერიოფაგის ფენომენი აღწერა, შეისწავლა და მეცნიერულად ახსნა ფრანგმა მეცნიერმა ფელიქს დერელმა (1873-1949 წ.). ფ. დერელმა 1917 წ. გამოაქვეყნა შრომები განსაკუთრებული აგენტის აღმოჩენის შესახებ, რომელიც იწვევდა ბაქტერიათა დაშლას.



სურ 3. ლიტური ბაქტერიოფაგების სასიცოცხლო ციკლი

ცნობილია ფაგების კლასიფიკაციის რამდენიმე ვარიანტი. ბარნეტის თანახმად [Burnet F, 1933; Гольдфард Д, 1961], კლასიფიკაციის დროს ყურადღება უნდა მიექცეს ფაგის ანტიგენურ სტრუქტურას, ფაგების და მათი ნეგატიური კოლონიების მორფოლოგიას, ფაგების ფიზიოლოგიურ თვისებებს (სხვადასხვა აგენტის ფაგზე ზემოქმედება, ფაგების მოქმედება ბაქტერიის S და R ფორმებზე, მეორეული კულტურების ჯვარედინი მდგრადობა. ადამსის [Adams M, 1955; Гольдфард Д, 1961; Конопаткин А, 1984] მიხედვით, ფაგების კლასიფიკაცია ეყრდნობა შემდეგ პარამეტრებს: ფაგების და მათი ნეგატიური კოლონიების მორფოლოგია, სეროლოგიური თვისებები, მოქმედების სპექტრი, მასპინძლის უჯრედთან ურთიერთქმედების თავისებურებები (ადსორბცია, ლატენტური პერიოდი, გამრავლება), ბაქტერიის ინფიცირება სხვადასხვა ფაგით, ნატრიუმის ციტრატის და შარდოვანას დამთრგუნველი ზეგავლენა, მეთილენის ლურჯის ფოტოდინამიური ზეგავლენა. დღეისათვის ფაგების კლასიფიკაციის მთავარ პარამეტრებად მიჩნეულია მათი მორფოლოგია და ბაქტერიულ უჯრედზე ზემოქმედების თავისებურებები [Ackermann H, 2009].

ბაქტერიოფაგი ქმნის ხუთ მორფოლოგიურ ჯგუფს:

1. ძაფისებური ბაქტერიოფაგი (*E.coli* ფაგები M13, fd, f1).
2. ბაქტერიოფაგი კუდის ანალოგიით (*E.coli* ფაგი MS-2, R 17 და სხვა).
3. ბაქტერიოფაგი მოკლე კუდით (*E.coli* ფაგი T 3, T 7 და სხვა).
4. ფაგი გრძელი კუდით, რომლის შალითაც არაკუმშვადია (*E.coli* ფაგი T I, T 5 პულორუმ-ფაგი და სხვა).
5. ფაგი გრძელი კუდით, რომლის შალითაც კუმშვადია (*E.coli* ფაგი T 2, T 4, T6, დიზენტერიის სადიაგნოსტიკო ფაგი, DDVI და სხვა).

კუდიანი ფაგები (ბინალური სიმეტრიის) დღესდღეობით დახასიათებული ფაგების დაახლოებით 96%-ს წარმოადგენენ და ფაგოთერაპიაშიც ამ ფაგებს იყენებენ, ისინი მიეკუთვნებიან *Caudovirales*, და ნაწილდებიან სამ დიდ ფილოგენეტიკურად დაკავშირებულ ოჯახში: *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae* [Calendar R, 2006; Ackermann H, 2005; Matsuzaki S, et. al. 2005; Weinbauer M, 2004].

ბაქტერიოფაგებში არჩევენ სიმეტრიის სამ ტიპს: ა) სპირალური, ბ) კუბური, გ) კომბინირებული. სპირალური სიმეტრია აქვს ძაფისებური ფორმის ფაგს. მისი კაფსიდი ცილინდრულია. კაპსომერები ნუკლეინის მჟავის გარშემო განლაგებულია სპირალურად.

წანაზარდიანი (კუდიანი) ფაგის კაფსიდი არის იკოსაედრა (ოცწახნაგა) ან მისი დერივატი. კაპსომერი იშვიათად ჩანს. ფაგი შედგება თავის, კუდის და ფაკულტატური სტრუქტურებისგან, როგორცაა თავის ან კუდის ფიბრილები, საყელო, ბაზალური ფირფიტა. კაფსიდში სუპერ სპირალურად მოთავსებულია ორმაფიანი დნმ. გენეტიკური რუქა კომპლექსურია.

მსგავსი ფუნქციების მქონე გენები დაჯგუფებულია ერთად. გარსში ლიპიდები ძირითადად არ გვხვდება, მაგრამ ის შეიძლება წარმოადგენილი იყოს გამონაკლისის სახით. კუდიანი ფაგების 1/3 ქლოროფორმ-მგრძნობიარეა. დნმ-ის ზომა ვარირებს 17-500kb შორის, ხოლო კუდის სიგრძე 10-800 ნმ. კუდიანი ფაგები შეძლება იყოს როგორც ვირულენტური, ასევე ზომიერი. კუდიანი ფაგების 50%-ს ზომიერი ფაგები წარმოადგენენ [Calendar R, 2006; Matsuzaki S, et. al. 2005; Weinbauer M, 2004].

Myoviridae: ფაგები, რომლებსაც აქვს გრძელი კომპლექსური კუდი. კუდი შედგება ცენტრალური ღერძისაგან (არხისაგან) და შეკუმშვის უნარის მქონე შალითისაგან. *Myoviridae*-ს მიეკუთვნება კუდიანი ფაგების 25%-ს. მათი ტიპური წარმომადგენლებია: T2, T4, P1, P2, Mu ფაგები და სხვა. ოჯახში გაერთიანებულია 6 გვარი [Calendar R, 2006; Ackermann H, 2005].

Siphoviridae: ფაგები გრძელი, მოქნილი კუდით, რომლის შალითას არ გააჩნია შეკუმშვის უნარი. ამ ოჯახში გაერთიანებულია კუდიანი ფაგების 61% [Calendar R, 2006; Ackermann H, 2005]. ტიპური წარმომადგენლებია: T1, T5, L5, λ ფაგები და სხვა. ოჯახი მოიცავს 6 გვარს.

Podoviridae: კუდიანი ფაგების 14%-ს წარმოადგენენ, მათთვის დამახასიათებელია მოკლე კუდი. ტიპური წარმომადგენლებია: P22, T7 ფაგები და სხვა. ამ ოჯახში გაერთიანებულია 3 გვარი [Calendar R, 2006; Ackermann H, 2005].

ამ სამი ოჯახიდან კაფსიდის ყველაზე დიდი ზომით და დნმ-ის მაღალი შემცველობით ხასიათდება *Myoviridae*, ხოლო *Podoviridae* და *Siphoviridae*, ამ მახასიათებლით ერთმანეთთან უფრო ახლო მსგავსებას ავლენენ [Calendar R, 2006].

არსებობს ბაქტერიოფაგების განვითარების ორი ციკლი: 1. ლიზისური და 2. ზომიერი.

განვითარების ლიზისური ციკლი იწყება ფაგის მიკრობზე ადსორბციით [Calendar R, 2006; Weinbauer M, 2004]. ბაქტერიოფაგის ადსორბცია პატრონ უჯდერზე მკაცრად სპეციფიკურია და რეცეპტორების საშუალებით ხორციელდება. გრამ-უარყოფით ბაქტერიაში ნებისმიერი ცილა, ოლიგოსაქარიდი, ლიპოპოლისაქარიდი შეიძლება წარმოადგენდეს რეცეპტორს ფაგისათვის. ადსორბციის სიხშირე ხშირად დამოკიდებულია მრავალ გარემო ფაქტორზე და მასპინძელი მიკრობის ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე. მაგალითად λ რეცეპტორების ექსპრესია ხდება მხოლოდ მალტოზის

შაქრის თანაარსებობისას [Matsuzaki S, et. al. 2005]. მრავალი ფაგისთვის სხვადასხვა კოფაქტორების არსებობაა აუცილებელი, მაგალითად Ca^{2+} Mg^{2+} იონების, ან სხვა მარტივი კათიონების. მუტაციების დროს, რომელსაც თან ახლავს ბაქტერიული რეცეპტორების ცვლილება, უჯრედი კარგავს ფაგის ადსორბციის უნარს და იძენს რეზისტენტობას მის მიმართ.

ადსორბციის შემდეგ, ფაგის გენომი კუდის გავლით შედის უჯრედში. ეს პროცესი არ განიხილება როგორც დნმ-ის მარტივი ინექცია, არამედ ამ პროცესში ჩართულია დნმ-ის ტრანსფერის რამდენიმე მექანიზმი [Matsuzaki S, et. al. 2005]. ფაგის ადსორბციის შემდეგ, უჯრედის კედლის შემადგენლობაში არსებული თუთიის იონები (Zn^{2+}) იწვევს ფაგის კუდის დისტალური ნაწილის ბოჭკოების გაგლეჯას. გამოთავისუფლებული ბაზალური ფირფიტა კუდის დისტალურ ნაწილში მოთავსებული ფერმენტის ენდოლიზინის (ლიზოციმის) გამოყოფით ახდენს ბაქტერიული უჯრედის კედლის მიმდებარე ფრაგმენტის ლიზირებას. ამავდროულად შალითაში გამოთავისუფლებული Ca^{2+} იონები იწვევს ატფ-აზას აქტივირებას, რაც თავის მხრივ განაპირობებს შალითის შეკუმშვას და უჯრედში ციტოპლაზმატური მემბრანის გავლით კუდის ღერძის შეჭრას. ამის შემდგომ ადგილი აქვს ვირუსული დნმ-ის უჯრედის ციტოპლაზმაში სწრაფ გადასვლას [Calendar R, 2006; Guttman B, et. al. 2005].

უჯრედში ფაგის დნმ-ის ინექციის შემდეგ საწყის საფეხურს წარმოადგენს მასპინძლის რნმ-პოლიმერაზას მიერ ფაგის პრომოტორის შეცნობა და ადრეული გენების ტრანსკრიფცია [Calendar R, 2006]. ამ გენების პროდუქტები იცავენ ფაგურ დნმ-ს და ახდენენ მასპინძელი უჯრედის რესტრუქტურიზაციას: ინაქტივირებენ მასპინძელი უჯრედის პროტეაზებს, რესტრიქციულ ენზიმებს, შლიან სხვადასხვა ცილებს. შუალედური გენების ტრანსკრიპცია მიმართულია ფაგის ახალი დნმ-ის სინთეზისთვის. შუალედურ გენებს მოყვება გვიანი გენები, რომლებიც უკვე კოდირებენ ფაგური ნაწილაკების ასაწყობ სტრუქტურებს. მასპინძელი უჯრედის დნმ-ის დეგრადაცია და მატრიცული რნმ-ის ტრანსლაციის ინჰიბირება, ეს ის მექანიზმებია, რომელიც პარალელურად მიმდინარეობს უჯრედში [Calendar R, 2006; Guttman B, et. al. 2005].

ვირუსული დნმ-ის სპეციფიკური აფინური უბნები იწვევს ფაგების თავების წინამორბედების თავმოყრის ინდუცირებას ნუკლეინის მჟავების აგრეგატების ირგვლივ. ფაგის ოჯახების უმრავლესობაში ამ სტადიაზე ხდება ნუკლეინის მჟავების შესვლა შექმნილ კაფსიდში და დნმ-ის შემცველი ფაგის თავების წარმოქმნა. დანარჩენ ფაგებში ნუკლეინის მჟავების გარშემო ხორციელდება კაფსიდის კონსტრუირება. შევსებული თავები შემდგომ ურთიერთქმედებს კუდის ნაწილებთან – წარმოიქმნება ფუნქციონალური ფაგი, ანუ ხდება ფაგის აწყობა. ახალი ფაგების თავმოყრას უჯრედში ეწოდება ფაგის მომწიფება. ფაგის დნმ-ის ინექციიდან ფაგების ახალი შთამომავლობის გამოთავისუფლებამდე დროის ინტერვალს ეწოდება ლატენტური პერიოდი [Guttman B, et. al. 2005]. ლატენტური პერიოდი დამოკიდებულია მასპინძლის ფიზიოლოგიაზე და მერყეობს 20 წთ-დან 30-40 სთ-მდე.

ფაგის სასიცოცხლო ციკლის საბოლოო საფეხურია ფაგის ახალი თაობის გამოთავისუფლება და მასპინძელი უჯრედის ლიზისი [Guttman B, et. al. 2005; Matsuzaki S, et. al. 2005]. კუდიანი ფაგები ლიზისისთვის 2 კომპონენტს იყენებენ: ენზიმ-ლიზინს, რომელსაც პეპტიდოგლიკანური შრის გახლეჩვის უნარი აქვს და ცილა ჰოლინს, რომელიც გარკვეულ შიდა მემბრანაზე ფორების გაჩენით ხელს უწყობს ლიზინს, ადვილად მიაღწიოს პეპტიდოგლიკანურ შრემდე. სხვადასხვა ფაგის შვილეულ

პოპულაციებში ვირიონების რაოდენობა მეტ-ნაკლებად მუდმივია და იწოდება, როგორც ფაგის გამოსავლიანობა, ანუ ფაგის გამოსავალი.

ვირულენტური ფაგი შესაძლებელია აღმოჩნდეს ე.წ. ფსევდოლიზოგენურ მდგომარეობაში, რომელსაც ზოგჯერ მტარებლობას უწოდებენ. ცნობილია ფსევდოლიზოგენიის რამდენიმე მექანიზმი. ზოგჯერ ის ვითარდება ბაქტერიების ფაგისაგან დროებითი იზოლაციის შედეგად. ეს გამოყოფა შესაძლებელია სუფთა მექანიკურ ხასიათს ატარებდეს. მაგალითად, რომელიმე წებოვანი სუბსტრატი უჯრედებს გარს ეკვრის და ხელს უშლის ფაგებით მათ სწრაფ ინფიცირებას. ხშირ შემთხვევაში ფსევდოლიზოგენიას განსაზღვრავს ე.წ. შიმშილობა, ანუ საკვებით ღარიბი პირობები. ასეთ დროს არ არის საკმარისი ენერჯია იმისთვის, რომ ფაგმა განახორციელოს თავისი სასიცოცხლო ციკლი და ფაგის გენომი მასპინძელი უჯრედის შიგნით არის არააქტიურ მდგომარეობაში [Guttman B, et. al. 2005].

ზომიერი ფაგებისთვის დამახასიათებელია სასიცოცხლო ციკლის 2 გზა: ლიზისური ან ზომიერი. ის, თუ რომელი გზით წარიმართება სასიცოცხლო ციკლი, დამოკიდებულია ბაქტერიული უჯრედის ფიზიოლოგიური მდგომარეობის განმსაზღვრელ მრავალ ფაქტორზე [Calendar R, 2006; Guttman B, et. al. 2005]. ლიზისური გზის შემთხვევაში, ლიზოგენური ფაგები გადიან განვითარების იგივე ეტაპებს, რასაც ლიტიური ფაგები. ზომიერი სასიცოცხლო ციკლის შემთხვევაში, ფაგური დნმ ინტეგრირდება ბაქტერიულ დნმ-ში პროფაგის სახით და რეპლიცირდება სინქრონულად ბაქტერიულ გენომთან ერთად. სწორედ ამ მოვლენას ლიზოგენია ეწოდება, ხოლო ბაქტერიულ კულტურას - ლიზოგენური.

ლიზოგენურ ფაგებს უნარი აქვთ გადაიტანონ მასპინძელი უჯრედის გენები ერთი ბაქტერიიდან მეორეში (ტრანსდუქცია) [Canchaya C, et. al. 2003; Fancello L, et. al. 2011; Guttman B, et. al. 2005; Rolain J, et. al. 2011]. მრავალ ლიზოგენურ ფაგს გააჩნია ინტეგრირებისთვის სპეციფიკური საიტები. პროფაგის ინდუქციის დროს ადგილი აქვს მიკრობის დნმ-ის ნაწილის წამოღებას ფაგის მიერ. ამ შემთხვევაში ტრანსდუქცია მოიხსენიება, როგორც სპეციალიზირებული ტრანსდუქცია [Guttman B, et. al. 2005]. სხვა ფაგებისთვის დამახასიათებელი არ არის ინტეგრირებისთვის სპეციალური უბნების არსებობა და ისინი ინტეგრირდებიან ბაქტერიული დნმ-ის ნებისმიერ უბანში, შემთხვევითად. ასეთი სახის ტრანსდუქცია უკვე მოიაზრება, როგორც გენერალიზირებული ტრანსდუქცია [Guttman B, et. al. 2005].

ფაგის იმუნოლოგიური თვისებები მისი ცილებით არის განპირობებული. ფაგის ცილები მკაცრად დიფერენცირებულია. ამიტომ, იმუნიზაციის შემთხვევაში, ორგანიზმში წარმოიქმნება ანტისხეულები, რომლებიც ფაგის ცილებისათვის სპეციფიკურია.

ფაგის ცილების ერთი ნაწილი გარსის გარე ზედაპირზეა განლაგებული (კუდის გარე გარსზე, თავის მემბრანაზე), სხვა ცილები კი ნაწილაკის შიგნით არის მოთავსებული.

იმუნიზაციის დროს, როდესაც გამოიყენება ინტაქტური ფაგური კონცენტრატი, ანტისხეულები წარმოიქმნება ფაგის ზედაპირზე მდებარე ცილების შესაბამისად, ხოლო დაშლილი ფაგებით იმუნიზაციის დროს ანტისხეულები წარმოიქმნება ფაგის მთელი ანტიგენური კომპლექსის მიმართ [Guttman B, et. al. 2005].

ფაგის ადსორბცია ბაქტერიულ უჯრედზე დამოკიდებულია გარემოს ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებზე, ბაქტერიის უჯრედის ფიზიოლოგიურ მდგომარეობაზე და

უჯრედის ანტიგენურ სტრუქტურაზე. ბაქტერიის განვითარების სხვადასხვა ეტაპზე ფაგის ადსორბციის უნარი განსხვავებულია. ბაქტერიის ზრდის დროს უჯრედის ზედაპირი იზრდება და შედეგად, მატულობს ფაგის ადსორბციის უნარიც. ადსორბცია დამოკიდებულია ბაქტერიის მოძრაობის ხარისხზეც. ამიტომ, ბაქტერიისათვის არასასურველ პირობებში ფაგის ადსორბციის უნარიც კლებულობს. ფაგის ადსორბცია განსხვავებული ხასიათისაა არამარტო სხვადასხვა სახეობის, არამედ ერთი სახეობის ბაქტერიის სხვადასხვა შტამში [Rakhuba D, et. al. 2010].

ეპიდემიოლოგიური გამოკვლევის პრაქტიკაში ფართოდ გამოიყენება გაფოტიპირების მეთოდი.

ფაგოტიპირების თანამედროვე სქემა ეფუძნება ორ ძირითად პრინციპს. ერთ ვარიანტში შტამების დიფერენციაცია ხდება სპეციფიკური ბაქტერიოფაგის სტანდარტული პრეპარატის მიმართ მგრძობელობის მიხედვით. მეორე შემთხვევაში შტამები იყოფა ფაგოტიპებად იმ თვისებების მიხედვით, რომელიც მათგან გამოყოფილ ზომიერ ფაგებს გააჩნია (ლიტიური აქტივობა, სეროლოგიური მახვენებლები და სხვ.).

პირველ ვარიანტში ტიპური ფაგები შეიძლება განეკუთვნებოდეს ორ კატეგორიას. პირველში შედის ის ფაგები, რომლებიც ერთი საწყისი ფაგის ადაპტაციის შედეგად არის მიღებული. ეს ფაგები სეროლოგიურად იდენტურია და როგორც წესი, კრიტიკულ ტესტურ გაჯერებაში ახდენენ მხოლოდ ჰომოლოგიური ტიპის შტამის ლიზის და არ მოქმედებს ჰეტეროლოგიურ შტამებზე. ამ ხერხით მიღებული სუფთა ხაზები გამოიყენება *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. paratyphi*-ს ტიპირების სქემაში.

მეორე კატეგორიას ეკუთვნის სქემები, სადაც გამოიყენება სხვადასხვა წარმოშობის ფაგები, რომლებსაც ძირითადად, ლიზოგენური სტრუქტურებიდან იღებენ. ასეთი პრეპარატები, ტესტური გაჯერების შემთხვევაში, ახდენენ როგორც ჰომოლოგიური, ასევე ჰეტეროლოგიური შტამების ლიზის. ასეთი სქემების გამოყენების დროს ბაქტერიების ფაგოტიპების აღწერა და დიფერენცირება ხდება მალიზირებელი ფაგების კომბინაციის მიხედვით. აღნიშნული სქემები გამოიყენება პარატიფის ბაქტერიების, სტაფილოკოკების, დიზენტერიის გამომწვევების ფაგოტიპირებისათვის [ნათიძე მ, 1989].

ბაქტერიოფაგის პრეპარატები დიდი ხანია გამოიყენება როგორც სამკურნალო საშუალება ანთებითი პროცესების საწინააღმდეგოდ. პირველად ბაქტერიოფაგებს იყენებდნენ ეტიოლოგიურად განსხვავებული ინფექციური დაავადებების სამკურნალოდ. ისინი გამოყოფილი იყო თითქმის ყველა არსებული ბაქტერიული სახეობის მიმართ. ბაქტერიოფაგების გამოყენება გარკვეულწილად შეიზღუდა სულფანილამიდური პრეპარატების და ანტიბიოტიკების გამოჩენისთანავე. თუმცა ფაგების გამოყენება სამკურნალო მიზნით მიმდინარეობდა აღმოსავლეთ ევროპაში და ყოფილ საბჭოთა კავშირის ქვეყნებში. მათ შორის იყო გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტი საქართველოში [Weber-Dąbrowska B, et. al. 2000; Weber-Dąbrowska B, et. al. 2003; Sulakvelidze A, et. al. 2001; Drulis-Kawa Z, et. al. 2005].

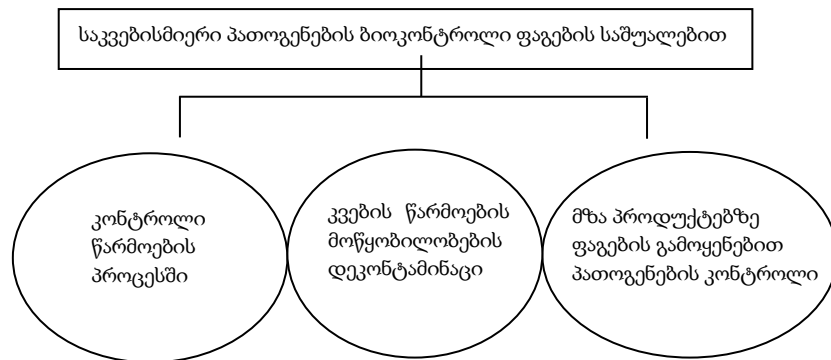
60-იანი წლების პირველ ნახევარში მეცნიერებმა დაადგინეს, რომ ფართოდ გავრცელდა მიკრობების პოლირეზისტენტული ფორმები, რამაც ანტიბიოტიკოთერაპია მეტად შეზღუდა. კლინიკურ სტაციონარებში გამოიყოფოდა ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტული შტამები, რომლებზეც არ მოქმედებდნენ ისეთი ანტიბიოტიკები, როგორებიცაა კარბენიცილინი, გენტამიცილინი, ტეტრაციკლინი და სხვა. ზოგიერთ

შემთხვევაში ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობას განსაზღვრავდნენ არაქრომოსომული გენეტიკური ელემენტები, რომლებიც კონიუგაციის, ტრანსდუქციის, ან სპონტანური ტრანსფორმაციის გზით გადაეცემოდნენ სხვა არარეზისტენტულ მიკრობებს.

ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, საჭირო გახდა ანტიბიოტიკების ალტერნატიული პრეპარატების მოძებნა და შექმნა. ასეთ ალტერნატიულ პრეპარატს წარმოადგენს პოლივალენტური სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების პრეპარატები, რომელთა გამოყენება იძლევა მაღალ სამკურნალო ეფექტს და ისინი არიან ცოცხალი მიკროორგანიზმებისათვის აბსოლუტურად უვნებელი [O’Flaherty S, et. al. 2009; Fischetti V, 2008; Labrie J, et. al. 2010].

ცნობილია, რომ ფაგების გამოყოფა შეიძლება ჩამდინარე წყლიდან, ნიადაგიდან, ფეკალური მასიდან, საკვებიდან და სხვა [Lin L, et. al. 2010; Kumari S, et. al. 2010; Nigutová K, et. al. 2008].

ფაგების გამოყენება შესაძლებელია კვების პროდუქტებში საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების კონტროლისათვის, რაც გულისხმობს როგორც წარმოების პროცესში მათ გამოყენებას, ასევე წარმოების შემდგომ ეტაპზე მზა პროდუქტების პათოგენური მიკროორგანიზმებით კონტამინაციის რისკის შესამცირებლად [Bhardwaj N, et. al. 2015].



სურ 4. საკვებისმიერი პათოგენების კონტროლი ფაგების საშუალებით

ცნობილია ოთხი ძირითადი საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმი *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* და *Listeria*, რომლებიც აღწევენ ცხოველებისა და ფრინველების კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში და იწვევენ მათ დასნებოვნებას. მნიშვნელოვანია ფაგების გამოყენება წარმოებამდე პროცესში იმისათვის, რომ თავიდან იქნას აცილებული ცხოველების/ფრინველების დაავადებები და მაქსიმალურად შემცირდეს პათოგენური მიკროორგანიზმების გავრცელება მათ კუჭ-ნაწლავის ტრაქტში, რაც ხელს შეუშლის მიკრობების მოხვედრას საკვებ პროდუქტებში. ხოლო წარმოების შემდგომი სტრატეგია დამყარებულია ბაქტერიოფაგების გამოყენებაზე უშუალოდ საკვებ პროდუქტებზე, როგორც სადეზინფექციო საშუალება (სურ. 4) [Sillankorva S, et. al. 2012].

ბაქტერიების ანტიმიკრობულ საშუალებათა მიმართ მკვეთრად გაზრდილი რეზისტენტობის ფონზე, მნიშვნელოვანია ბაქტერიოფაგების გამოყენება კვების უსაფრთხოებაში საკვები პროდუქტების შეხების ზედაპირებისა და საწარმოების აღჭურვილობის დეკონტამინაციის მიზნით. საკვები პროდუქტების, საწარმოების და

სხვა ზედაპირების ფაგებით დამუშავებით შემცირდება ინფექციური დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების გავრცელება, რაც ასევე შეამცირებს ადამიანების დაავადებების რისკს. საკვები პროდუქტების დეკონტამინაციის ფიზიკური და ქიმიური მეთოდებისაგან განსხვავებით, როგორც არის პასტერიზაცია, ორთქლის ვაკუუმით, მაღალი წნევით, ქიმიური ნაერთებით დამუშავება, რომლებსაც დადებით ეფექტთან ერთად ახასიათებთ არასასურველი შედეგები, ბაქტერიოფაგები წარმოადგენენ ბუნებრივ, არა ტოქსიკურ ალტერნატიულ საშუალებას საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი პათოგენური მიკროორგანიზმების ელიმინაციისათვის [Maukonen], et. al. 2003; Sulakvelidze A, et. al. 2010].

ფაგები მიეკუთვნებიან მაღალეფექტურ და უვნებელ პრეპარატებს, რომელთა პრაქტიკული გამოყენების მნიშვნელობა იზრდება როგორც მედიცინაში, ასევე ვეტერინარიაში. ვირულენტური ბაქტერიოფაგური პრეპარატების ანტიბაქტერიული ეფექტი გამოწვეულია ფაგის შეღწევადობით ბაქტერიულ უჯრედში, შემდგომი გამრავლებით და საბოლოოდ ინფიცირებული უჯრედის ლიზისით. ლიზისის პროცესის შედეგად გარემო არეში გამოყოფილი ფაგი, თავის მხრივ, აინფიცირებს სხვა ბაქტერიულ უჯრედს და იწვევს მის ლიზისს, რასაც მივყავართ ანთების გამომწვევი პათოგენური მიკროორგანიზმების სრულ განადგურებამდე. ცნობილია, რომ ფაგები ხასიათდებიან უვნებლობით, სტაბილურობით და მოქმედების სპეციფიკურობით. ანტიბიოტიკების მოხმარებით გამოწვეული მთელი რიგი გართულებების გათვალისწინებით, ფაგური პრეპარატების მიმართ ინტერესი მკვეთრად გაიზარდა ბიოფილმების წარმოქმნის კონტროლისათვის შესაძლო გამოყენების გამო. ფაგების უპირატესობას წარმოადგენს მათი მოქმედების მაღალი სპეციფიკურობა, მოქმედებს მხოლოდ ინფექციის გამომწვევზე და არა ადამიანისა და ცხოველის ნორმალურ მიკროფლორაზე, მრავლობით რეზისტენტული შტამების ლიზისის უნარი და რაც მთავარია, აბსოლუტურად უვნებლობა ადამიანების, ცხოველების და გარემო არის მიმართ [Kutateladze M, et. al. 2010; Abedon S, et. al. 2011; Wittebole X, et. al. 2014; Burrowes B, et. al. 2011].

უკანასკნელ წლებში სამეცნიერო ლიტერატურაში არსებული მონაცემები ადასტურებს ბაქტერიოფაგების გამოყენების პერსპექტივას ბიოფილმების წარმოქმნის თავიდან ასაცილებლად [Harper D, et. al. 2014; Azeredo J, et. al. 2011; Soni K, et. al. 2010; Webb J, et. al. 2004; Azeredo J, et. al. 2008; Fu W, et. al. 2010; Kamlesh A, et. al. 2010; Carson L, et. al. 2010].

ბაქტერიოფაგები მოქმედებენ ბიოფილმებში შემავალ ბაქტერიებზე განსხვავებულად, ვიდრე ქიმიური ანტიბიოტიკები და ბიოციდები. არსებობს ამ განსხვავების რამდენიმე მექანიზმი [Harper D, et. al. 2014]:

- ფაგები განიცდიან რეპლიკაციას მასპინძელ ბაქტერიულ უჯრედში, რის შედეგადაც იზრდება მათი რაოდენობა. ბიოფილმებში მათი გავრცელების შედეგად ხდება მასში შემავალი ბაქტერიების ელიმინაცია, ფერხდება ბიოფილმების არაუჯრედული პოლიმერული ნაერთის წარმოქმნა და საბოლოოდ, მათი განადგურება.
- ფაგებს აქვთ დეპოლიმერაზული ენზიმების წარმოქმნის უნარი, რომელიც იწვევს არაუჯრედული პოლიმერული ნაერთის დეგრადაციას.
- პერსისტორ უჯრედებს შეუძლიათ დაინფიცირდნენ ფაგებით. მიუხედავად იმისა, რომ ფაგებს არ შეუძლიათ გამრავლება და არააქტიური უჯრედების

განადგურება, მათ შეუძლიათ დარჩენა ამ ბაქტერიებში, სანამ ისინი არ გააქტიურდებიან და შემდგენ მოახდენენ მათ განადგურებას.

ცნობილია, რომ მრავალი ბაქტერიოფაგის გენომი შეიცავს ბიოფილმების მატრიქსის დესტრუქციის უნარის მქონე ფერმენტებს. ძირითად შემთხვევებში ისინი არიან ხსნადი ფერმენტები, რომლებიც განთავსებულია ფაგის კუდის ნაწილში, გააჩნიათ არაუჯრედული პოლიმერული მატრიქსის დესტრუქციის პოტენციალი და ეხმარებიან ვირუსებს ბაქტერიული უჯრედის კედელში შეღწევაში. [Sillankorva S, et. al. 2011; Leiman P, et. al. 2004; Yan J, et. al. 2013].

ექსპერიმენტული მონაცემები აჩვენებს, რომ ფაგები განსაკუთრებით კარგად იზრდებიან *P. aeruginosa*-ს შტამების მიერ ფორმირებულ ბიოფილმებზე როგორც საწყის ეტაპზე, ასევე უკვე ფორმირების დასრულებულ ეტაპზე [Sharp R, et. al. 2003; Hanlon G, et. al. 2001].

ცდების შედეგად დადგინდა, რომ *P. aeruginosa*-ს 17 შტამი, რომელიც არ იყო მგრძობიარე ფაგების მიმართ (პლანქტონური უჯრედების შემთხვევაში), აქედან 8 შტამზე გამოვლინდა იგივე ფაგების ზრდა ბიოფილმების მოდელზე. ფაგების მოქმედების ეფექტურობა გამოვლინდა ისეთ შემთხვევებში, როდესაც ჩვეულებრივი ანტიბიოტიკები არაეფექტურობას ავლენდნენ [Gupta K, et. al. 2013].

In vivo სისტემებში ბაქტერიოფაგებთან ერთად მოქმედებენ სხვადასხვა იმუნური, ბიოლოგიური, ქიმიური და მექანიკური ფაქტორებიც, რომლებიც მონაწილეობენ ინფექციის ელიმინაციაში [Harper D, et. al. 2013]. ბაქტერიოფაგების მოქმედების ეფექტურობა *in vivo* ნაჩვენებია ისეთი ინფექციების წინააღმდეგ, რომელიც გამოწვეულია ბიოფილმების ფორმირების შედეგად როგორც ადამიანებში, ასევე ცხოველებში [Hawkins C, et. al. 2010; Wright A, et. al. 2009].

აბიოტურ სისტემებში, როგორც არის სამრეწველო დაბინძურება ბიოფილმების მიერ, ბიოტური სისტემებისაგან განსხვავებით, არის დამატებითი ფაქტორების მოქმედების სიმწირე, რის გამოც ბაქტერიოფაგების აქტივობის ზრდას მიენიჭა განსაკუთრებული მნიშვნელობა. სხვადასხვა შრომებში ნაჩვენებია ბაქტერიოფაგების მოქმედების მაღალი ეფექტურობა ფოლადის ზედაპირებზე კულტივირებულ როგორც ერთი სახეობის, ასევე რამოდენიმე სახეობის მიკროორგანიზმების მიერ ფორმირებულ ბიოფილმებზე [Sillankorva S, et. al. 2011].

სხვადასხვა მიკროორგანიზმების ბიოფილმებზე ჩატარებული ცდებით ნაჩვენებია ბაქტერიოფაგების მოქმედების მაღალი ეფექტურობა ანტიბიოტიკებთან და ენზიმებთან კომბინაციაში, რომლებიც მონაწილეობენ ბიოფილმების არაუჯრედული პოლიმერული მატრიქსის დეგრადაციაში [Verma V, et. al. 2010; Harper D, 2010; Yilmaz C, et. al. 2013; Seth A, et. al. 2013]. აგრეთვე გამოავლინეს ფაგებმა მაღალი ეფექტურობა სხვადასხვა ზედაპირებზე წარმოქმნილ ბიოფილმებზე კომენსალურ ბაქტერიებთან და ბიოციდებთან კომბინაციაში [Liao K, et. al. 2012; Zhang Y, et. al. 2013].

თავი II

გამოკვლევის მასალა და მეთოდები

ნაშრომი შესრულებულია გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის გამოყენებითი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიაში.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საკვები პროდუქტებში გავრცელებული სალმონელების საწინააღმდეგო ეფექტური ბაქტერიოფაგების შემცველი კოქტეილის შექმნა და ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა დეკონტამინაციისთვის.

კვლევის მიზნის მისაღწევად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

1. საკვები პროდუქტებიდან სალმონელას კულტურების გამოყოფა და მათი მოლეკულურ-ბიოლოგიური შესწავლა;
2. საკვებისმიერი სალმონელების საწინააღმდეგო ბაქტერიოფაგების გამოყოფა, შესწავლა და ეფექტური ფაგური კოქტეილის შექმნა;
3. სალმონელას საწინააღმდეგო ფაგების შემცველი მიკრო აეროზოლის გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა დეკონტამინაციისთვის;
4. ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა ბიოფილმების წინააღმდეგ.

2.1. სალმონელას შტამების გამოყოფა და შესწავლა

2.1.1. ნიმუშების აღება

სალმონელების გამოყოფის მიზნით საკვები პროდუქტების ნიმუშები აღებული იქნა საქონლის, ღორის, ქათმის ხორციდან და ქათმის კვერცხიდან. ნიმუშები აღებული იქნა თბილისისა და მის შემოგარენში არსებული აგრარული ბაზრებიდან და არაცენტრალიზებული მარკეტებიდან. გამოკვლევებისათვის გამოვიყენეთ მიკრობიოლოგიური გამოკვლევებისათვის რეკომენდირებული მასალები, საკვები არეები და რეაქტივები. ახლად აღებული სინჯები მოვათავსეთ სტერილურ სინჯარებში და ასეთ პირობებში განხორციელდა ტრანსპორტირება ლაბორატორიაში. სინჯები ჩათესილი იქნა თხევად საკვებ არეში, ხოლო შემდეგ გაითესა მყარ საკვებ ნიადაგებზე (ენდო, ბრეინ-ჰარტი). კვერცხიდან დამზადდა ჩამონარეცხები სტერილური ტამპონისა და ფიზიოლოგიური ხსნარის მეშვეობით, რის შემდეგაც გაითესა მყარ საკვებ ნიადაგებზე (ენდო, ბრეინ-ჰარტი). კვერცხის შიგთავსის გამოსაკვლევად იგი სტერილური პინცეტით ამოვტეხეთ, სტერილური პიპეტით ამოვიღეთ შიგთავსი და გავთესეთ საკვებ ნიადაგზე. საექვო კოლონიები გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია სტანდარტული ბიოქიმიური და სეროლოგიური მეთოდებით.

მიკრობთა კულტურების მორფოლოგიურ შესწავლას და მოძრაობას ვადგენდით მიკროსკოპირებით, ბიოქიმიური თვისებების შესწავლას და სეროლოგიურ ტიპებს კი სპეციალური ტესტებით და შრატების გამოყენებით.

მიკროსკოპიული გამოკვლევა გულისხმობდა მყარი საკვები არეებიდან მიღებული ნაზარდის შეღებვას გრამის წესით, რომელსაც ვიკვლევდით იმერსიული სისტემით.

2.1.2. სალმონელას შტამების ბიოქიმიური შესწავლა

სალმონელების მოძრაობის დადგენას ვახდენდით ჩაკიდული ან გაჭყლებილი წვეთის მეთოდით, რომელიც ითვალისწინებდა საკვლევი კულტურის ჩათესვას 0,3% აგარში, კულტივირებას 37°C -ზე და მიკროსკოპირებას.

ყველა გამოყოფილი შტამი შესწავლილი იქნა გოგირდწყალბადისა და ინდოლის წარმოქმნაზე, გლუკოზის, ციტრატის უტილიზაციაზე და ნიტრატების წარმოქმნაზე.

ნახშირწყლების ჰიდროლიზს ვსაზღვრავდით ჰისის არეში ჩათესვით, კულტივირებით 37°C-ზე 18-20 საათის განმავლობაში შემდეგ მჟავისა და აირების წარმოქმნის განსაზღვრით.

გოგირდწყალბადის წარმოქმნის დასადგენად გამოვიყენეთ ძმარმჟავას 10%-იან ხსნარში დასველებული ფილტრის ქაღალდი. ინდოლის დასადგენად კულტურებს ვთესავდით სტროგოვის საკვებ არეზე, ხოლო გოგირდწყალბადის დასადგენად ჩვეულებრივ ხჰბ-ს.

ამიაკის დასადგენად სასაგნე მინაზე ვაწვეთებდით კულტურის 18-20 საათიან ბულიონიან ნაზარდს, რომელშიც შეგვქონდა 1 წვეთი ნესლერის რეაქტივი. სითხის ყვითლად შეფერვა ადასტურებდა ამიაკის არსებობას.

2.2. ანტიმიკრობული რეზისტენტობის დადგენა

ანტიმიკრობული რეზისტენტობა დადგენილ იქნა ბულიონით ანტიბიოტიკების მიკროგანზავებებით და დისკო-დიფუზური მეთოდით სტანდარტული ანტიბიოტიკური და სულფანილამიდების დისკების გამოყენებით. ამ ცდაში გამოვიყენეთ შემდეგი ანტიბიოტიკები: ამპიცილინი (10 მკგ), ქლორამფენიკოლი (30 მკგ), ციპროფლოქსაცინი (5 მკგ), გენტამიცინი (10 მკგ), ტეტრაციკლინი (30 მკგ), ტრიმეთოპრიმი (5 მკგ) და კანამიცინი (30 მკგ).

2.2.1. დისკების მეთოდი

გამდნარ საკვებ არეს ვასხავდით სტერილურ პეტრის ფინჯნებზე 18-22 მლ ოდენობით. გაცივებული არის ზედაპირზე ხდება მიკრობის კულტივირება. სასურველია მიკრობი გადავთესოთ კულტურის მიღებისთანავე. ამისათვის საკვებ არეზე ვთესავდით 1-მლ 18-24 საათიან, ხოლო ექსტრემალურ პირობებში 4-5 საათიან ბულიონის კულტურას. ფინჯნებს ვაშრობდით ოთახის ტემპერატურაზე 30-40 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგ უკვე დათესილი ნიადაგის ზედაპირზე ვათავსებდით ანტიბიოტიკურ და სულფანილამიდურ დისკებს. დისკები დამორებულები უნდა იყვნენ 2-2 სმ-ის ინტერვალით ფინჯნის ნაპირებიდან. დისკიან ფინჯნებს ოთახის პირობებში ვტოვებდით 30-40 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგ 16-18 საათის

განმავლობაში ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C-ზე. კულტივირების შემდეგ სპეციალური სახაზავით ვზომავდით სტერილურ ზონებს ანტიბიოტიკური დისკების ირგვლივ. მგრძნობელობის შეფასების კრიტერიუმები შემდეგია: 5-მმ-დან 11-მმ-მდე-რეზისტენტული, 12-მმ-დან 19-მმ-მდე ზომიერად მგრძნობიარე, ხოლო 20-მმ-დან 29-მმ-მდე დიამეტრი კი მგრძნობიარე.

2.2.2. სერიული განზავების მეთოდი

შტატივში ვათავსებდით 20 სინჯარას 2 რიგად და თითოეულში შეგვქონდა 1 მლ საკვები არე. I რიგის სინჯარებში ვახდენდით სტანდარტული ანტიბიოტიკის თანამიმდევრულ განზავებას, რისთვისაც I სინჯარაში ვუმატებდით 1 მლ ანტიბიოტიკს ცნობილი განზავებით, ხსნარს შევურევდით და მის 1 მლ-ს გადავიტანდით მომდევნო სინჯარაში და ა.შ. ბოლოს წინიდან ზედმეტი 1 მლ ვაქცევდით. II უკანასკნელ სინჯარაში ანტიბიოტიკი არ შეგვქონდა, ვტოვებდით საკონტროლოდ.

II რიგის სინჯარებში ამავე მეთოდით ვანზავებდით საკვლევ ანტიბიოტიკს ან სულფანილამიდს, შემდგომ ორივე რიგის ყველა სინჯარაში ვუმატებდით ტესტ-მიკრობს შესაბამისი კონცენტრაციით. სინჯებს ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში. პრეპარატის უმცირეს რაოდენობას, რომელშიც არ მრავლდებოდა ტესტ-მიკრობი, ვადარებდით სტანდარტული ანტიბიოტიკის ისეთივე განზავებას და ვსაზღვრავდით მის შემცველობას 1 მლ-ში განზავების გათვალისწინებით.

2.3. პულსირებად ველში გელ ელექტროფორეზი (PFGE)

ჩვენს ექსპერიმენტებში ვიყენებდით CHEF-DR II სისტემას (Bio-Rad). გამოვიყენეთ *Sallmonella typhimurium*-სთვის შემუშავებული პროტოკოლი (PulseNet, PFGE Manual, 1999). წინასწარ მომზადებული და გასტერილებული უჯრედების სუსპენზიის ბუფერში (CSB: Tris 100 mM; EDTA 100 mM; pH 8.0) ხდებოდა ერთი უჯრედისაგან გაზრდილი ცოცხალი ბაქტერიების სუსპენდირება და განსაზღვრულ კონცენტრაციამდე მიყვანა - 610 ნმ ტალღის სიგრძეზე ოპტიკური სიმკვრივე (OD) 0.70-0.80. 400 მკლ უჯრედულ სუსპენზიას ემატებოდა 20 მკლ პროტეინაზა-K (20 მგ/მლ), 400 მკლ წინასწარ მომზადებული (TE, 1% Sea-Kem Gold Agarose, Cambrex, 1% SDS) და 55-60°C-მდე გაგრილებული აგაროზის გელი და მიღებული ნარევი ჩამოისხმებოდა სპეციალურ ყალიბებში. გამყარებული აგაროზის ბლოკი თავსდებოდა 5 მლ ლიზის ბუფერში (50mM Tris, 50mM EDTA, pH 8.0 + 1% Sarcosine), რომელსაც ემატებოდა 25 მკლ პროტეინაზა-K (20მგ/მლ) და ვახდენდით ინკუბაციას 55°C-ზე 2 საათის განმავლობაში. ლიზისის დასრულების შემდეგ ბლოკებს ვრეცხავდით 50°C-ზე 3-ჯერ დისტილირებულ წყალში და 3-ჯერ TE ბუფერში. დნმ-ის რესტრიქციისათვის აგაროზის ბლოკიდან ჩამოიჭრებოდა ვიწრო ზოლი (~2მმ), ემატებოდა სპეციფიკურ ბუფერში გახსნილი რესტრიქციული ენდონუკლეაზა (XbaI) და ინკუბირდებოდა 37°C-ზე 4 სთ-ის განმავლობაში. ბოლო ეტაპზე ხდებოდა მიღებული დნმ-ის ფრაგმენტების 1%-იან

აგაროზის გელში (Sea-Kem Gold Agarose, Cambrex) ჩაყალიბება და CHEF-DR II, BioRad აპარატის ელექტროფორეზის კამერაში ჩადგმა, სადაც მოთავსებული იყო წინასწარ მომზადებული 0.5-ჯერადი TBE ბუფერი (Tris 130 mM; EDTA 2.5 mM; ბორის მჟავა 45 mM). ელექტროფორეზი პულსირებად ველში (PFGE) მიმდინარეობდა 19-20 საათი. ელექტროფორეზის შემდეგ გელი იღებებოდა ეთიდიუმ ბრომიდის ხსნარით (100 მგ/ლ) და მიღებული PFGE პროფილის ვიზუალიზაცია ხდებოდა ტრანსილუმინატორის ულტრაიისფერი გამოსხივების მეშვეობით. შედეგების დაფიქსირება ხდებოდა პოლაროიდისა და ციფრული კამერების მეშვეობით, ხოლო შეფასება და ანალიზი შესაბამისი პროგრამული უზრუნველყოფის უქონლობის გამო ვიზუალურად ხდებოდა.

2.4. სალმონელას ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და შესწავლა

2.4.1. ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და ტიტრის დადგენა

ბაქტერიოფაგებს ვყოფდით სხვადასხვა ადგილიდან აღებული ჩამდინარე წყლიდან ფილტრაციის მეშვეობით. ჩამდინარე წყლის 100 მლ-ს ვუმატებდით 10 მლ კონცენტრირებულ ბულიონს და 1 მლ სხვადასხვა სალმონელოზური შტამების (ტესტ-შტამები) 18 საათიან კულტურებს. თერმოსტატში 37°C-ზე 24 სთ ინკუბაციის შემდეგ ნარევს ვაცენტრიფუგირებდით 5,000 გ-ზე 30-40 წთ და სუპერნატანტს ვფილტრავდით 0.45 μm ზომის მემბრანულ ფილტრებში (Millipore).

ფილტრატში ფაგის არსებობას ვადგენდით «spot-test» მეთოდით, 0,1 მლ ფილტრატს თანაბრად ვანაწილებდით მყარ საკვებ ნიადაგზე არსებულ ტესტ შტამების გაზონზე. ვათავსებდით თერმოსტატში 18-24 საათის განმავლობაში 37°C-ზე. დადებით შედეგად ითვლებოდა გაზონზე ლიზისის ზონების არსებობა [Kutter E, et. al. 2004]. ბაქტერიოფაგების ტიტრის დადგენა ხდება როგორც თხიერ საკვებ არეში - აპელმანის მეთოდით, ასევე მყარ საკვებ არეში - ორშრიანი აგარის მეთოდით.

2.4.1.1. ბაქტერიოფაგების ტიტრის დადგენა თხიერ საკვებ არეში - აპელმანის მეთოდი

თხიერ საკვებ არეში ტიტრის დასადგენად 4.5 მლ საკვებ ბულიონიან სინჯარებში ვახდენდით საკვლევი ფაგის თანმიმდევრულ ათჯერად განზავებას და ყოველ სინჯარას ვუმატებდით 0,1 მლ ბაქტერიულ შტამს 10^8 PFU/ml კონცენტრაციით. პარალელურად ვდგამდით კონტროლს (0,1 მლ ბაქტერიულ შტამს ვამატებდით 4,5 მლ საკვებ არეს ფაგის დამატების გარეშე). 37°C-ზე 18-24 სთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ ფაგის აქტივობას ვსაზღვრავდით კულტურის კონტროლთან შედარებით საკვლევი სინჯარების გამჭვირვალობის ხარისხის მიხედვით.

2.4.1.2. ბაქტერიოფაგების ტიტრის დადგენა მყარ საკვებ არეზე - ორშრიანი აგარის მეთოდი

გამოსაკვლევ ფაგს ვტიტრავდით სასურველ განზავებამდე ათჯერადი განზავების მეთოდით. სათანადო განზავებიდან ფაგის 1 მლ გადაგვექონდა ცალკეულ სტერილურ სინჯარებში, რომელთაც ვუმატებდით 0.1 მლ ტესტ-კულტურას და დაახლოებით 7 მლ

0.7%-იან აგარს. სინჯარებს აღნიშნული ნარევიტ სწრაფად ვანჯღრევდით და შიგთავსს თანაბრად ვანაწილებდით 2%-იან აგარიან პეტრის ფინჯნებზე. ფინჯნებს ვათავსებდით საინკუბაციოდ თერმოსტატში 37°C-ზე. 18-24 სთ-ის შემდეგ ვითვლიდით ნეგატიური კოლონიების რაოდენობას. ფაგის ტიტრი განისაზღვრებოდა 1 მლ საკვლევ სითხეში აქტიური ფაგური ნაწილაკების რაოდენობით.

2.4.2. ფაგების მასპინძელი უჯრედების სპექტრი და ეფექტური ფაგების შერჩევა

ვიკვლევდით ფაგების მასპინძელ უჯრედებზე მოქმედების სპეციფიკურობას და ლიზისის ეფექტურობას სხვადასხვა *S. typhimurium*-ის შტამებზე. სხვადასხვა *S. typhimurium*-ის შტამების გაზონებს ვზრდიდით ტრიპსინ სოიოს აგარზე (TSA) და 10 μ ლ ფაგს ვაწვეთებდით გაზონზე (1×10^4 - 1×10^7 PFU/ml). ფინჯნების 37°C-ზე 18 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ვამოწმებდით გამჭვირვალე ზონების არსებობას. ფაგების ეფექტურობის აღნიშვნისათვის ვიყენებდით შემდეგ შემოკლებებს: n/l - ლიზისის არ არსებობა (no lysis), cl - სრული ლიზისი (clear plaque) და scl - არასრული ლიზისი (turbid plaque).

2.4.3. ბაქტერიოფაგების გამრავლება

მიკრობული კულტურის და შესაბამისი ფაგის ნარევი (განზავებული 10^5 - 10^6) შპატელით დაიტანებოდა 1.5% აგარის ზედაპირზე ფაგისა და ბაქტერიების კოლონიების მისაღებად. ფინჯნებს ვათავსებდით თერმოსტატში 37°C-ზე. 18-20 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ვასხავდით 3 მლ ბულიონს და ვაჩერებდით 15-20 წთ. შემდგომ ვაგროვებდით ბულიონს და ვაცენტრიფუგებდით 9000-12000 g 30 წთ. მიღებული სუპერნატანტი გადაგვქონდა ჭურჭელში და ვტიტრავდით. ერთ მლ სუპერნატანტში იყო დაახლოებით 10^{10} - 10^{11} ფაგის ნაწილაკები.

2.4.4. ბაქტერიოფაგების დახასიათება

2.4.4.1. ელექტრონული მიკროსკოპია

ფაგის ვირიონის მორფოლოგიის შესასწავლად გამოიყენებოდა ელექტრონული მიკროსკოპია. ამ მიზნით მზადდებოდა ფაგების სუფთა ხაზები ტიტრით 10^9 PFU/ml. ყველა ნიმუშს ვღებავდით 1%-იანი ურანილ აცეტატით და სინჯების დათვალთვლებას ვახდენდით ელექტრონული მიკროსკოპით JEOL JEM 1400 TEM ში 80kV-ზე. ვიღებდით ელექტრონულ ფოტოსურათებს სხვადასხვა გადიდებით. ფაგების მორფოლოგიის მიხედვით, ვახდენდით მათ კლასიფიკაციას და ვაკუთვნებდით შესაბამის ოჯახს ვირუსების ტაქსონომიის საერთაშორისო კომიტეტის კლასიფიკაციის მიხედვით.

2.4.4.2. ფაგის ადსორბცია და გამრავლების ერთჯერადი ციკლი

ფაგის ლიზატს 1×10^7 PFU/ml და ბაქტერიულ შტამს 1×10^8 PFU/ml თანაბარი რაოდენობით 1:1 (0.1 MOI) ვათავსებდით 37°C-ზე წყლის აბაზანაში და სინჯებს ვიღებდით 1 წუთიანი ინტერვალით 1 დან 15 წუთამდე. 0,1 მლ სინჯი შეგვქონდა 9,9

მლ ბულიონში, ვუმატებდით 0,4 მლ ქლოროფორმს და 10 წუთის განმავლობაში ვაყოვნებდით ყინულში. შემდეგ ვაზავებდით და სინჯი შესაბამისი განზავებიდან გადაგვქონდა ფინჯანზე გრაციას ორშრიანი აგარის მეთოდით. პარალელურად ვდგამდით კონტროლს, სადაც ქლოროფორმის მაგივრად ვიყენებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს. შედეგების შეფასებას ვახდენდით კონტროლთან შედარებით.

2.4.4.3. ფაგის ლატენტური პერიოდი და გამოსავლიანობა

ბულიონში ასჯერადად განზავებულ 18 სთ-იან კულტურას ვათავსებდით 37°C-ზე წყლის აბაზანაში, ბაქტერიის ზრდის ექსპონენციალურ ფაზამდე (5×10^8 PFU/ml). ფაგს ვამატებდით (1×10^7 PFU/ml) იმ რაოდენობით, რომ MOI-ინფექციის მრავლობითობა შეადგენდეს 0,1. ნარევს ვაჩერებდით 15 წთ აბსორბციისათვის. ნარევს ვაცენტრიფუგებდით (8,000 x g, 10 წთ, 4°C) და ნალექს, რომელიც შეიცავდა ინფიცირებულ უჯრედებს, ვხსნიდით 10 მლ საკვებ ბულიონში და შემდეგ ვახდენდით ინკუბაციას 37°C-ზე წყლის აბაზანაში. ნიმუშებს ვიღებდით პერიოდულად 5 წთ-ის ინტერვალით 1.5 საათის განმავლობაში და ვსაზღვრავდით ფაგის ტიტრს გრაციას ორშრიანი აგარის მეთოდით. მეორე დღეს ნეგატიური კოლონიების რაოდენობის მიხედვით ვახდენდით ლატენტური პერიოდისა და ფაგის გამოსავლიანობის განსაზღვრას.

2.4.4.4. ფაგების თერმოსტაბილურობა და pH სტაბილურობა

ფაგების თერმოსტაბილურობის განსაზღვრისათვის, *Salmonella*-ს ფაგებს კონცენტრაციით 10^8 PFU/ml ვუმატებდით LB ბულიონს და ვაკეთებდით ფაგის სუსპენზიის ინკუბაციას 20, 30, 40, 50, 60, 70 და 75°C-ზე 1 სთ. ინკუბაციის შემდეგ დროის გარკვეულ ინტერვალში (0', 5სთ, 24სთ) ხდებოდა სინჯების აღება და ფაგის აქტივობის განსაზღვრა გრაციას ორშრიანი აგარის მეთოდით. ფაგების სუსპენზიებს, კონტროლის სახით, ვათავსებდით 4°C-ზე.

ფაგის აქტივობის განსაზღვრა სხვადასხვა pH-ის პირობებში - 9,9 მლ სხვადასხვა pH-ის (pH 3', 5', 7', 9', 11') მქონე საკვებ ბულიონში შეგვქონდა 0,1 მლ ფაგის ლიზატი ტიტრით 1×10^9 PFU/ml. ფაგის სუსპენზიებს ვათავსებდით საინკუბაციოდ 37°C-ზე 24 სთ და გრაციას ორშრიანი აგარის მეთოდის გამოყენებით ვსაზღვრავდით ფაგის აქტივობის ცვლილებას. კონტროლის მიზნით ფაგის სუსპენზიებს ვაჩერებდით pH 7-ზე იგივე პერიოდის განმავლობაში.

2.4.4.5. ოსმოსური შოკის გავლენა ბაქტერიოფაგებზე

ბაქტერიოფაგებს ვაზავებდით NaCl-ის 1,5-4 მლ ხსნარში. 0.1 მლ შეგვქონდა სინჯარებში და ვათავსებდით 37°C-ზე 15 წთ-ის განმავლობაში. სწრაფად ვუმატებდით 10 მლ გამოხდილ წყალს, გულდასმით ვურევდით და ვიკვლევდით გრაციას მეთოდით. საკონტროლო სინჯარაში გამოხდილი წყლის ნაცვლად შეგვქონდა იმავე რაოდენობით NaCl-ის ხსნარი.

2.4.5. ფაგის გენომის დახასიათება

2.4.5.1. ბაქტერიოფაგის დნმ-ის გამოყოფა

ბაქტერიოფაგის დნმ-ის პრეპარატების მიღებას ვახდენდით კლასიკური ფენოლ/ქლოროფორმით დეპროტეინიზაციის მეთოდით [Маниатис Т, 1984]. დნმ-ის გამოსაყოფად სუსპენზიის მინიმალური კონცენტრაცია შეესაბამება 10^8 - 10^9 PFU/ml. თავდაპირველად ფაგის სუსპენზიას ვამუშავებდით (1 მკგ/მლ) DNA-აზა, RNA-აზა-თი ერთი საათის განმავლობაში 37°C -ზე. ინკუბაციის შემდეგ სუსპენზიას ვურევდით საწყისი მოცულობის 1/10 ლიზისურ ბუფერს (1% SDS, 10 mM EDTA), ნარევს ვაყოვნებდით ოთახის ტემპერატურაზე 10 წუთის განმავლობაში. შემდეგ ვახდენდით სამეტაპიან დეპროტეინიზაციას ფენოლ/ქლოროფორმით:

1. ნარევს ვუმატებდით 1/1 მოცულობის ფენოლს. 10 წუთი ინტენსიური შენჯღრევის შემდეგ ნარევს 10 წთ 10.000 გ-ზე ვაცენტრიფუგებდით.

2. სუპერნატანტს ვუმატებდით ფენოლ/ქლოროფორმ/იზოამილის სპირტის ნარევს (25:24:1). 10 წუთიანი ინტენსიური შენჯღრევის შემდეგ ვაცენტრიფუგებდით 10.000 გ-ზე.

3. სუპერნატანტს თანაბარი მოცულობით ვუმატებდით ქლოროფორმ/იზოამილის სპირტს (24:1), ვანჯღრევდით და ვაცენტრიფუგებდით 10 წთ 10.000 გ-ზე.

სუპერნატანტს ვუმატებდით 0,5 წილ ნატრიუმის აცეტატს (3/1 თანაფარდობით ძმარმჟავა/3M ნატრიუმის აცეტატი) და 0,2 წილ იზოპროპანოლს. დნმ გამოილექებოდა ძაფისებური სახით, რის შემდეგაც ნარევი თავსდებოდა -20°C -ზე მაქსიმალური პრეციპიტაციისათვის. შემდეგ ხდებოდა მისი ცენტრიფუგირება 10 წთ 10.000 გ-ზე. მიღებული ნალექი ირეცხებოდა 70%-იანი ეთანოლით და ბოლო ეტაპზე ცენტრიფუგირების (10 წთ 10.000 გ) შემდეგ ნალექის გაშრობა მიმდინარეობდა ოთახის ტემპერატურაზე, ეთანოლის აორთქლებამდე. გამშრალი დნმ იხსნება TE ბუფერში (10 mM Tris-HCl, pH 7,4; 1 mM EDTA, pH 8,0) .

ფაგის დნმ-ის გამოყოფა ასევე ხდებოდა მაღალი სისუფთავის ვირუსული ნუკლეინის მჟავის გამოსაყოფი ნაკრებით (QIAGEN, GmbH, Germany); მიღებულ პრეპარატში დნმ-ის კონცენტრაციას ვსაზღვრავდით ვიზუალიზაციის გზით (გელ-ელექტროფორეზით) ან სპექტროფოტომეტრულად [Адамс М, 1961; Маниатис Т, 1984].

2.4.5.2. ფაგის დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზი

რესტრიქციული ანალიზისათვის ვიყენებდით სხვადასხვა რესტრიქციულ ენდონუკლეაზებს - EcoR I და Hind III. დნმ-ის პრეპარატის დამუშავებას რესტრიქციული ენდონუკლეაზებით ვახდენდით ფერმენტის მწარმოებელი ფირმის (New England Biolabs) მიერ მითითებულ სარეაქციო არეში. ექსპერიმენტის ხასიათიდან გამომდინარე ვახდენდით დნმ-ის მოლეკულის სრულ ან არასრულ ფრაგმენტაციას. საინკუბაციო ნარევის მოცულობა შეადგენდა 20-50 მკლ, რომელიც შეიცავდა 1-5 მკგ დნმ-ს და 1-10 ერთეული აქტივობის ფერმენტს. ინკუბაცია მიმდინარეობდა 25 - 37°C ტემპერატურაზე 2-4 სთ ხანგრძლივობით. დნმ-ის არასრული ჰიდროლიზის დროს რეაქციას ვაჩერებდით სინჯის გადატანით დაბალ ტემპერატურაზე 0°C -მდე 0,1 mM EDTA-ს დამატებით [Маниатис Т, 1984]. დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზის შედეგად

მიღებული ფრაგმენტების ზომების შესაფასებლად ვიყენებდით გელ-ელექტროფორეზის მეთოდს 1% აგაროზას გელზე 70 V-ის პირობებში 2 სთ გელის შემდგომი შედეგებით ეთიდიუმ ბრომიდის მეშვეობით (1 µg/ml) და დნმ-ის სტანდარტული მარკერების გამოყენებით.

2.5. სალმონელის ბიოლოგიური კონტროლის მეთოდები

2.5.1. ფაგის ეფექტურობის განსაზღვრა ექსპერიმენტულად მიკროაეროზოლის გამოყენებით

2.5.1.1. კუპონები

კუპონებს ვამზადებდით 2.5×2.0 მინისგან. 1 ატმ. 30 წთ ავტოკლავირების შემდეგ, კუპონებს ვათავსებდით დახურულ სტერილურ კონტეინერში.

2.5.1.2. კუპონების მომზადება

მშრალ რძეს ვხსნიდით გამობდილ წყალში და ვამზადებდით 5%-იან წყალხსნარს და ვადულებდით 5 წთ. 10 µl მიღებული სითხე დაგვეკონდა კუპონებზე და ვაშრობდით ბიოლოგიური უსაფრთხოების კაბინაში (BSC) დაახლოებით 25 წთ სითხის სრულ გაქრობამდე. მინის კუპონებზე გამშრალი რძე წარმოადგენდა ორგანული არის მსგავს ანალოგს ბუნებრივ პირობებში.

2.5.1.3. ფაგის სუსპენზია

ექსპერიმენტისათვის გამოვიყენეთ *Salmonella*-ს საწინააღმდეგო ფაგი *vB_Stm 118* ~10⁹ PFU/ml. ექსპერიმენტის წინ თანაბარი რაოდენობით შევურიეთ 4 მლ ფაგი და 4 მლ PBS (pH 7.0).

2.5.1.4. აეროზოლის გენერაცია

ფაგის შემცველი ხსნარიდან მიკროაეროზოლის გენერაციისთვის გამოვიყენეთ სამედიცინო ნებულაიზერი (Happyneb II, GIMA S.p.A., Italy). Happyneb II წარმოქმნის ჰაერის ძლიერ ნაკადს 15ლ/წთ წნევით 1.1 ბარი (~16 psi) და წარმოქმნის აეროზოლის მცირე ზომის ნაწილაკებს (დიამეტრი ~2µm).

2.5.1.5. ექსპერიმენტული კამერა

ექსპერიმენტს ვატარებდით 10.5 ლ მოცულობის პლასტმასის კონტეინერში და ხელნაკეთ კამერაში. თითოეულ კონტეინერზე დამაგრებული იყო ერთი ნებულაიზერი. ფინჯნებს და კუპონებს ვათავსებდით კონტეინერში, თავსახურს ვახურავდით, მაგრამ

არაჰერმეტიულად იმისათვის, რომ შექმნილიყო დადებითი წნევა კონტეინერში. ყველა ექსპერიმენტის შემდეგ კონტეინერებს ვუკეთებდით დეზინფექციას 70%-იანი EtOH და ვახდენდით ნებულაიზერის ავტოკლავირებას, რომელიც დამაგრებული იყო კონტეინერზე.



სურ 5. კონტეინერზე დამაგრებული ნებულაიზერი

2.5.1.6. ექსპერიმენტის მიმდინარეობა

2.5.1.6.1. *S. typhimurium*-ის ზრდა და უჯრედების სუსპენზიის მომზადება კუპონებზე ინოკულაციისთვის

ყველა ცდისთვის ვიღებდით 37°C-ზე, 200 rpm გაზრდილ 18 საათიან *S. typhimurium 118* კულტურას, რომელსაც ვაზავებდით სუფთა ხსნარით OD₆₀₀ 0.3-0.35 OD-მდე (შეესაბამებოდა ~10⁸ CFU/ml). კონტროლად გამოიყენებოდა საკვები არე. წინასწარ ხდებოდა სამუშაო უჯრედულ სუსპენზიაში უჯრედების ზუსტი რაოდენობის დადგენა. უჯრედების რაოდენობის ზუსტად განსაზღვრისთვის ხსნარს ვაზავებდით სერიულად 10-ჯერადად. განზავებები სამჯერადად დაგვქონდა ფინჯნებზე, ვახდენდით ინკუბაციას 37°C-ზე 24 საათის განმავლობაში და შემდეგ ხდებოდა კოლონიების დათვლა.

2.5.1.6.2. კუპონების მომზადება და დამუშავება

მინის კუპონები წინასწარ დავამუშავეთ რძით და დავიტანეთ მასზე *S. typhimurium*-ის უჯრედები. ამისათვის, 20 µl ხსნარი (~10⁸ CFU/ml) დავიტანეთ კუპონების ზედაპირზე. უჯრედების კონცენტრაცია თითოეულ კუპონზე შეადგენდა 2×10⁶ CFU. შემდეგ გავაშრეთ ბიოლოგიური უსაფრთხოების კამერაში სითხის სრულ გაშრობამდე (30-40 წთ).

თითოეული ექსპერიმენტისათვის მოვამზადეთ 12 ერთნაირი მინის კუპონი.

2.5.1.6.3. ცდის დასაწყისში (ნულოვანი დრო) გადარჩენილი ბაქტერიული უჯრედების რიცხვის დასადგენი ჯგუფი (კონტროლი 1)

სამ კუპონზე (“A1”, “A2”, და “A3”) დაგვქონდა კულტურა, ვაშრობდით და ამის შემდეგ დაუყოვნებლივ ვრეცხავდით. ამისათვის კუპონებს ვათავსებდით 15 მლ სტერილურ პეპტონიანი წყლის შემცველ სინჯარებში და ვორტექსის საშუალებით ვანჯღრევდით 20 წმ. შემდეგ თითოეულ კუპონს ვიღებდით სინჯარიდან სტერილურად და დამატებით ხდებოდა ჩამორეცხვა 5 მლ პეპტონიანი წყლით ზედაპირზე დარჩენილი უჯრედების მოსაშორებლად. კუპონების ჩამორეცხვის შედეგად მიღებულ 20 მლ ხსნარს სერიულად 10-ჯერადად ვაზავებდით. ამ განზავებებიდან 100-100 მკლ ხსნარი დაგვქონდა სამჯერადად ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად.

დამატებით, ჩამორეცხილ კუპონებს ვათავსებდით აგარიან ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას 37°C -ზე 24 საათის განმავლობაში კუპონის ზედაპირზე დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების გამოსავლენად.

ეს ექსპერიმენტი ტარდებოდა უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე მათზე „გაშრობის“ გავლენის შესასწავლად.

2.5.1.6.4. ექსპერიმენტის ხანგრძლივობის დროს კუპონებზე დატანილი გამშრალი ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა (კონტროლი 2)

სამ კუპონზე (“B1”, “B2”, და “B3”) დაგვქონდა კულტურა, ვაშრობდით და ვაყოვნებდით ბიოლოგიური უსაფრთხოების კაბინაში რეზერვუარში არსებული მიკროაეროზოლის სრულ ამოწურვამდე. შემდეგ კუპონებს ვათავსებდით 15 მლ სტერილურ პეპტონიანი წყლის შემცველ სინჯარებში და ვორტექსის საშუალებით ვანჯღრევდით 20 წმ. შემდეგ თითოეულ კუპონს ვიღებდით სინჯარიდან სტერილურად და დამატებით ხდებოდა ჩამორეცხვა 5 მლ პეპტონიანი წყლით ზედაპირზე დარჩენილი უჯრედების მოსაშორებლად. კუპონების ჩამორეცხვის შედეგად მიღებულ 20 მლ ხსნარს სერიულად 10-ჯერადად ვაზავებდით. ამ განზავებებიდან 100-100 მკლ ხსნარი დაგვქონდა სამჯერადად ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად.

დამატებით, ჩამორეცხილ კუპონებს ვათავსებდით აგარიან ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას 37°C -ზე 24 საათის განმავლობაში კუპონის ზედაპირზე დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების გამოსავლენად.

ამ ექსპერიმენტს ვატარებდით კუპონებზე აეროზოლით დამუშავების გარეშე დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების რაოდენობის ზუსტად დასადგენად.

2.5.1.6.5. ფაგის შემცველი აეროზოლის მოქმედების შემდეგ ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა

სამ კუპონზე (“C1”, “C2”, და “C3”) დაგვქონდა კულტურა, ვათავსებდით #1 კონტეინერში და ვაფრქვევდით ფაგის შემცველ მიკროაეროზოლს. ამის შემდეგ კუპონებს ვიღებდით კონტეინერიდან, ვათავსებდით 15 მლ სტერილურ პეპტონიანი წყლის შემცველ სინჯარებში და ვორტექსის საშუალებით ვანჯღრევდით 20 წმ. შემდეგ თითოეულ კუპონს ვიღებდით სინჯარიდან სტერილურად და დამატებით ხდებოდა ჩამორეცხვა 5 მლ პეპტონიანი წყლით ზედაპირზე დარჩენილი უჯრედების მოსაშორებლად. კუპონების ჩამორეცხვის შედეგად მიღებულ 20 მლ ხსნარს სერიულად 10-ჯერადად ვაზავებდით. ამ განზავებებიდან 100-100 მკლ ხსნარი დაგვქონდა სამჯერადად ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად. აგრეთვე ფინჯანზე დაგვქონდა 100 მკლ განუზავებელი ხსნარი, ვახდენდით ინკუბაციას და ვითვლიდით დარჩენილ სიცოცხლისუნარიან უჯრედებს.

ეს ექსპერიმენტი ტარდებოდა იმისათვის, რომ დაგვედგინა აეროზოლის სახით ბაქტერიოფაგების ლიტიური აქტივობა.

2.5.1.6.6. ფაგის არშემცველი აეროზოლის მოქმედების შემდეგ ბაქტერიული უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა

სამ კუპონზე (“D1”, “D2”, და “D3”) დაგვქონდა კულტურა, ვათავსებდით #2 კონტეინერში და ვაფრქვევდით მიკროაეროზოლს, რომელიც შეიცავდა 4 მლ LB ხსნარს და 4 მლ PBS (pH 7.0). თითოეულ კუპონს ვიღებდით სინჯარიდან სტერილურად და დამატებით ხდებოდა ჩამორეცხვა 5 მლ პეპტონიანი წყლით ზედაპირზე დარჩენილი უჯრედების მოსაშორებლად. კუპონების ჩამორეცხვის შედეგად მიღებულ 20 მლ ხსნარს სერიულად 10-ჯერადად ვაზავებდით. ამ განზავებებიდან 100-100 მკლ ხსნარი დაგვქონდა სამჯერადად ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად. აგრეთვე ფინჯანზე დაგვქონდა 100 მკლ განუზავებელი ხსნარი, ვახდენდით ინკუბაციას და ვითვლიდით დარჩენილ სიცოცხლისუნარიან უჯრედებს.

დამატებით, თითოეულ ჩამორეცხილ კუპონს ვათავსებდით მყარ საკვებ არეზე, ვახდენდით ინკუბაციას 37°C -ზე 24 საათის განმავლობაში კუპონის ზედაპირზე ჩამორეცხვის შედეგად დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების გამოსავლენად.

ამ ექსპერიმენტს ვატარებდით ფაგის არშემცველი აეროზოლის უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე მოქმედების დასადგენად.

2.5.1.6.7. კუპონების ნაცვლად მყარი საკვები ნიადაგის შემცველი ფინჯნების ინოკულაცია ბაქტერიული უჯრედებით

ორგანული ნაერთებით გამდიდრებული მყარი საკვები არის შემცველი ფინჯნები გამოვიყენეთ როგორც კუპონები. თითოეულ ფინჯანზე დაგვქონდა 100 მკლ *S. typhimurium*-ის უჯრედების სუსპენზია ($\sim 10^4$ PFU/ml). ორ ჩათესილ ფინჯანს ვათავსებდით #1 კონტეინერში მინის კუპონებთან ერთად და ვაფრქვევდით ფაგის შემცველ მიკროაეროზოლს, ხოლო ორ ფინჯანს ვათავსებდით #2 კონტეინერში და ვაფრქვევდით იგივე მოცულობის LB ხსნარის და PBS (pH 7.0) ნარევს. ექსპერიმენტის დასრულების შემდეგ, ფინჯნებს ვიღებდით კონტეინერებიდან, გადაგვქონდა თერმოსტატში, ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად.

ფინჯნების, როგორც კუპონების, გამოყენების დამატებითი უპირატესობა იყო ის, რომ უჯრედების წინასწარი გამრობა არ სჭირდებოდა და აქედან გამომდინარე, შრომის უარყოფითი გავლენა უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობაზე თავიდან იქნა აცილებული.

2.5.1.7. ექსპერიმენტის პირობები

ჩათესილ კუპონებს და ფინჯნებს ვათავსებდით დახურულ კონტეინერში და ვამაგრებდით აეროზოლის გენერატორს.

4 მლ ფაგის ხსნარს (10^9 PFU/ml) წინასწარ ვურევდით 4 მლ PBS pH 7.0 და ვამატებდით #1 ნებულაიზერის რეზერვუარს (ექსპერიმენტის კონტეინერი).

4 მლ LB ხსნარს წინასწარ ვურევდით 4 მლ PBS pH 7.0 და ვამატებდით #2 ნებულაიზერის რეზერვუარს (საკონტროლო კონტეინერი).

კონტეინერ #1-ში ფაგის შემცველი აეროზოლი შეიყვანებოდა 60 წუთის განმავლობაში (რეზერვუარში არსებული თითქმის მთელი მოცულობა ხსნარი). ერთი საათის შემდეგ აპარატს ვრთავდით და სინჯები დახურულ კონტეინერში იმყოფებოდა კიდევ ერთ საათს. ამრიგად, აეროზოლის ექსპოზიციის საერთო დრო შეადგენდა 2 საათს.

კონტეინერ #2-ში აეროზოლი, რომელიც ფაგს არ შეიცავდა მიეწოდებოდა იგივე პირობებით და ექსპოზიციის დრო ამ შემთხვევაშიც იყო 2 საათი.

2.5.2. ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე ბაქტერიოფაგების მოქმედების ეფექტურობის განსაზღვრა

2.5.2.1. ბიოფილმების წარმოქმნა

ბიოფილმების წარმოქმნის უნარს ვსაზღვრავდით *S. typhimurium*-ის შტამების ადჰეზიის უნარით «COSTAR»-ის ფორმის (აშშ) 96-დანაყოფიანი პოლისტიროლის პლანშეტის ზედაპირზე [O'Toole G, et. al. 1998]. ექსპერიმენტში ასევე გამოვიყენეთ ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული *P. aeruginosa*-ს კლინიკური შტამები. 150 მკლ

შტამების სუსპენზია შეგვქონდა უჯრედებში კონცენტრაციებით 10^3 - 10^5 PFU/ml (3 უჯრედში თითოეულ კონცენტრაციაზე). კონტროლის სახით უჯრედებში შეგვქონდა საკვები არე მიკროორგანიზმების გარეშე. 6, 18, 24, 48, 72 და 96-საათიანი ექსპოზიციის შემდეგ ხდებოდა უჯრედებიდან სითხის ფრთხილად ამოქაჩვა და ვამატებდით 150 მკლ 1%-იან კრისტალ-ვიოლეტის სპირტხსნარს. პლანშეტს ვათავსებდით ოთახის ტემპერატურაზე 45 წთ-ის განმავლობაში, ვაცილებდით თავისუფალ საღებავს და ორჯერ ვრეცხავდით უჯრედებს წყლით. საღებავის ჩამორეცხვის შემდეგ უჯრედებში შეგვქონდა 200 მკლ 96%-იანი ეთილის სპირტი. ბიოფილმის ბიომასას ვსაზღვრავდით ეთანოლით საღებავის ექსტრაქციის დონით. შეღებვის ინტენსივობას ვსაზღვრავდით Organon Teknika Reader (BioMerieux, France) ფოტომეტრის საშუალებით 540 ნმ ტალღის სიგრძეზე და ვადარებდით ექსპერიმენტული და საკონტროლო უჯრედების მიღებულ შედეგებს ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებლის მიხედვით. $OD < 0,2$ ითვლებოდა შტამის მიერ ბიოფილმის წარმოქმნის უნარის არ ქონად, $0,2 < OD < 0,4$ ბიოფილმის წარმოქმნის სუსტ უნარად, $0,42 < OD < 0,8$ ბიოფილმის წარმოქმნის საშუალო უნარად, $OD > 0,8$ ბიოფილმის წარმოქმნის ძლიერ უნარად.

2.5.2.2. ბაქტერიოფაგების მოქმედება

გამოვიყენეთ ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის კოლექციაში არსებული და გარემო არედან ახლად გამოყოფილი ფაგები. ბაქტერიოფაგების მოქმედების ეფექტურობას ვსწავლობდით როგორც სუფთა კულტურებზე, ასევე ბიოფილმებზე. ბაქტერიოფაგებს ვამატებდით (50 მკლ ფაგი ტიტრით 10^9 PFU/ml თითოეულ უჯრედში) ბიოფილმის წარმოქმნის სხვადასხვა სტადიაზე: ბაქტერიული შტამის შეტანამდე, შტამებთან ერთად და უკვე ფორმირებულ ბიოფილმებზე. საკონტროლო უჯრედებს ვამატებდით იგივე რაოდენობის საკვებ არეს. ბიოფილმის მდგომარეობას ვაფასებდით ზემოთ აღწერილი მეთოდით.

2.5.3. მონაცემთა სტატისტიკური ანალიზი

მიღებული ციფრობრივი მონაცემები დამუშავდა სტატისტიკურად Microsoft Excel 2010-ის სტატისტიკური მონაცემთა დამუშავების მეთოდის გამოყენებით. კვლევის ყველა პარამეტრზე ყოველ ჯგუფში ვითვლიდით საშუალო მაჩვენებელს $M \pm SD$ (M - საშუალო SD - სტანდარტული გადახრა). მონაცემთა სარწმუნოების ანალიზისთვის გამოვიყენეთ სტიუდენტის t ტესტი. P -ს მნიშვნელობა < 0.05 მიჩნეულ იქნა სტატისტიკურად მნიშვნელოვან და ღირებულ მაჩვენებლად.

თავი III

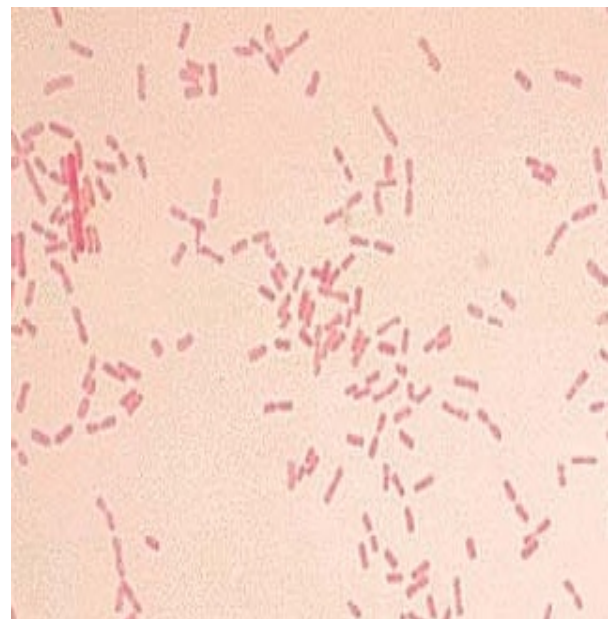
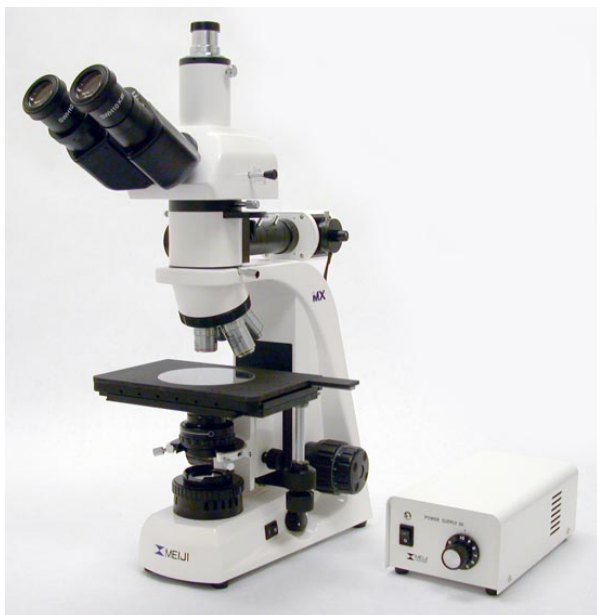
საკუთარი გამოკვლევის შედეგები

ამოცანა 1. საკვები პროდუქტებიდან სალმონელას კულტურების გამოყოფა და მათი მოლეკულურ-ბიოლოგიური შესწავლა

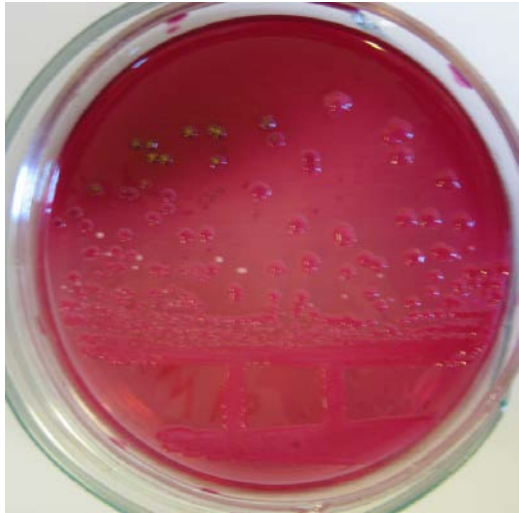
3.1. საკვები პროდუქტებიდან სალმონელას შტამების გამოყოფა და შესწავლა

ნიმუშები აღებული იქნა თბილისისა და მის შემოგარენში არსებული აგრარული ბაზრებიდან და არაცენტრალიზებული მარკეტებიდან 2012-2013 წლებში. აღებული ნიმუშების მიკრობიოლოგიური შესწავლა განხორციელდა გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის გამოყენებითი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიაში. სულ აღებული იქნა 200 ნიმუში. ჩვენს მიერ სინჯები აღებული იქნა საქონლის, ღორის, ქათმის ხორციდან და ქათმის კვერცხიდან.

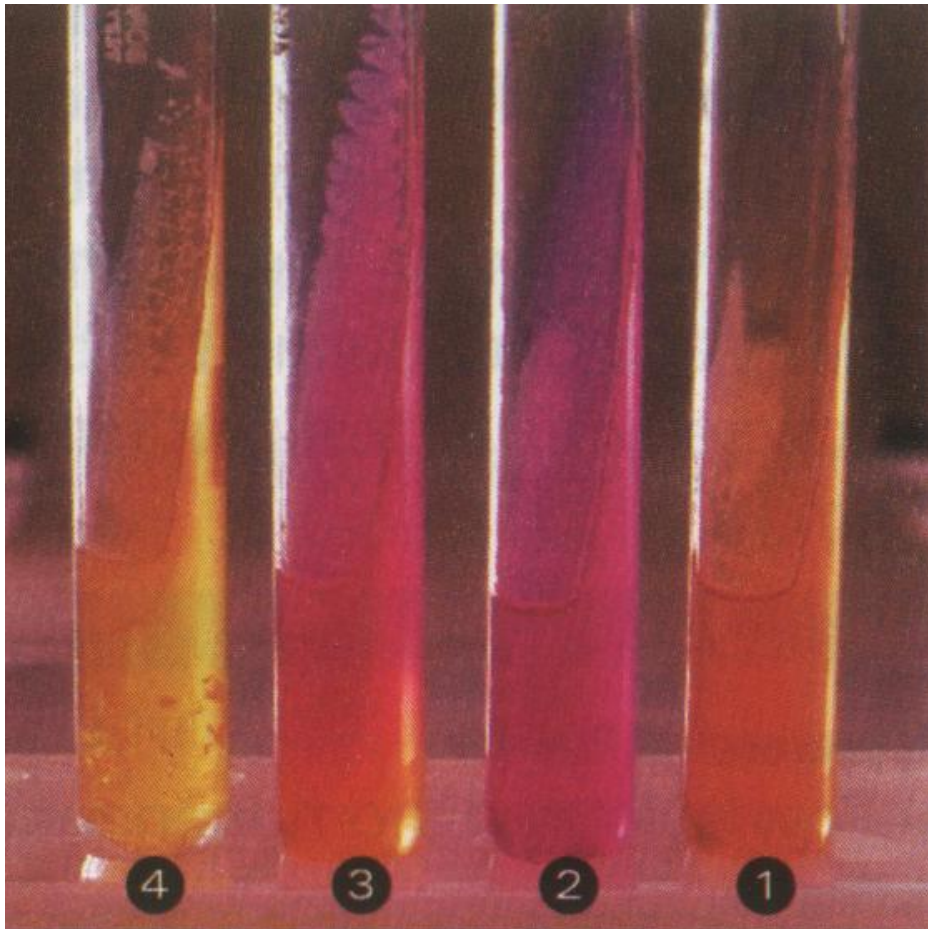
საკვლევი სინჯებიდან მიკრობიოლოგიური მეთოდებით, სპეციალური სადიაგნოსტიკო ნიადაგებისა და მიკროსკოპის საშუალებით ვახდენდით გამოყოფილი იზოლატების პირველად იდენტიფიკაციას, ხოლო საბოლოო იდენტიფიკაცია განხორციელდა სტანდარტული ბიოქიმიური და სეროლოგიური მეთოდების საშუალებით.



სურ 6. კვერცხიდან გამოყოფილი სალმონელების მიკროსკოპული სურათი



სურ 7. სალმონელების ზრდა სისხლიან და ენდოს აგარზე



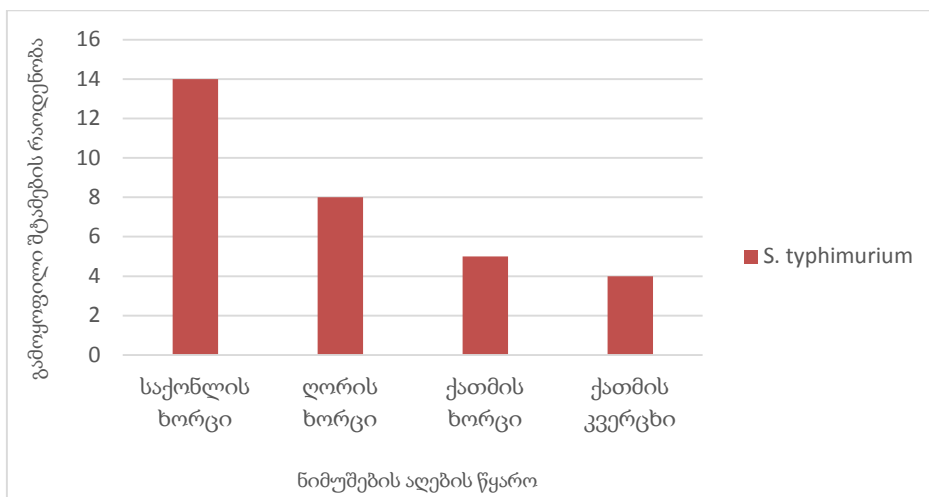
სურ 8. სალმონელების ბიოქიმიური თვისებების შესწავლა

ბიოქიმიური კვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ყველა გამოკვლეული შტამი იყო ნეგატიური ოქსიდაზას, ინდოლის, ურეაზას მიმართ და დადებითი მეთილენის წითელის, Simmons Citrate, გოგირდწყალბადის წარმოქმნის და ნიტრატების შემცირების მიმართ. გარდა ამისა, ყველა შტამი, ორის გარდა #3 და #5 იყო დადებითი კატალაზას ტესტის მიმართ. აღნიშნულმა ექსპერიმენტებმა გვიჩვენა, რომ ყველა შერჩეული *S. typhimurium*-ის შტამი იყო აქტიური და ქონდათ ძირითადი ბიოქიმიური თვისებები.

სულ აღებული იქნა ხორცის 150 და კვერცხის 50 ნიმუში. სინჯებიდან სულ გამოიყო *Salmonella typhimurium*-ის 31 შტამი (15.5%).

დიაგრამა #5

პროდუქტების მიხედვით გამოყოფილი *Salmonella*-ს შტამები



შემდგომ ექსპერიმენტებში ჩვენს მიერ გამოყოფილ 31 შტამთან ერთად გამოვიყენეთ ინსტიტუტის კოლექციაში არსებული *S. typhimurium*-ის 15 შტამი (ცხრილი 4).

ცდაში გამოყენებული *S. typhimurium*-ის შტამები

No	შტამი	გამოყოფის წყარო
1	<i>S typhimurium</i> #2	განავლის ნიმუში
2	<i>S typhimurium</i> #5	განავლის ნიმუში
3	<i>S typhimurium</i> #8	განავლის ნიმუში
4	<i>S typhimurium</i> #12	განავლის ნიმუში
5	<i>S typhimurium</i> #14	განავლის ნიმუში
6	<i>S typhimurium</i> #17	განავლის ნიმუში
7	<i>S typhimurium</i> #20	განავლის ნიმუში
8	<i>S typhimurium</i> #21	განავლის ნიმუში
9	<i>S typhimurium</i> #26	განავლის ნიმუში
10	<i>S typhimurium</i> #28	განავლის ნიმუში
11	<i>S typhimurium</i> #31	განავლის ნიმუში
12	<i>S typhimurium</i> #33	განავლის ნიმუში
13	<i>S typhimurium</i> #38	განავლის ნიმუში
14	<i>S typhimurium</i> #40	განავლის ნიმუში
15	<i>S typhimurium</i> #44	განავლის ნიმუში
16	<i>S typhimurium</i> #60	საქონლის ხორცი
17	<i>S typhimurium</i> #65	საქონლის ხორცი
18	<i>S typhimurium</i> #69	ღორის ხორცი
19	<i>S typhimurium</i> #70	კვერცხი
20	<i>S typhimurium</i> #72	საქონლის ხორცი
21	<i>S typhimurium</i> #73	კვერცხი
22	<i>S typhimurium</i> #77	კვერცხი
23	<i>S typhimurium</i> #79	ფრინველის ხორცი

24	<i>S typhimurium #82</i>	ღორის ხორცი
25	<i>S typhimurium #85</i>	ღორის ხორცი
26	<i>S typhimurium #87</i>	კვერცხი
27	<i>S typhimurium #91</i>	ღორის ხორცი
28	<i>S typhimurium #93</i>	საქონლის ხორცი
29	<i>S typhimurium #95</i>	საქონლის ხორცი
30	<i>S typhimurium #99</i>	ღორის ხორცი
31	<i>S. typhimurium #101</i>	საქონლის ხორცი
32	<i>S. typhimurium #102</i>	ფრინველის ხორცი
33	<i>S. typhimurium #103</i>	საქონლის ხორცი
34	<i>S. typhimurium #104</i>	საქონლის ხორცი
35	<i>S. typhimurium #105</i>	საქონლის ხორცი
36	<i>S typhimurium #106</i>	ღორის ხორცი
37	<i>S typhimurium #107</i>	საქონლის ხორცი
38	<i>S typhimurium #108</i>	ფრინველის ხორცი
39	<i>S. typhimurium #111</i>	საქონლის ხორცი
40	<i>S. typhimurium #112</i>	ფრინველის ხორცი
41	<i>S. typhimurium #113</i>	ღორის ხორცი
42	<i>S. typhimurium#114</i>	საქონლის ხორცი
43	<i>S. typhimurium #115</i>	საქონლის ხორცი
44	<i>S. typhimurium #116</i>	ღორის ხორცი
45	<i>S. typhimurium #117</i>	საქონლის ხორცი
46	<i>S. typhimurium #118</i>	ფრინველის ხორცი

3.1.2. გამოყოფილი სალმონელას კულტურების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძობელობის შესწავლა

კვლევის შემდგომ ეტაპს წარმოადგენდა ჩვენს მიერ შერჩეული სალმონელების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძობელობის განსაზღვრა საქართველოში მედიცინასა და ვეტერინარიაში გამოყენებული ძირითადი ანტიბიოტიკების მიმართ.

როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ (მასალა და მეთოდები) ანტიბიოტიკებისადმი მგრძობელობა დავადგინეთ ბულიონით ანტიბიოტიკების მიკროგანზავებებით და დისკო-დიფუზური მეთოდით სტანდარტული ანტიბიოტიკური და სულფანილამიდების დისკების გამოყენებით.

ცდაში გამოვიყენეთ შემდეგი ანტიბიოტიკები: ამპიცილინი - 10 მკგ, ქლორამფენიკოლი - 30 მკგ, გენტამიცინი - 10 მკგ, ციპროფლოქსაცინი - 5 მკგ, ტეტრაციკლინი - 30 მკგ, ტრიმეთოპრიმი - 5 მკგ, კანამიცინი - 30 მკგ



სურ 9. გამოყოფილი სალმონელას კულტურების ანტიბიოტიკოგრამა



სურ 10. სალმონელას კულტურების ანტიბიოტიკოგრამა (რეზისტენტული 7 ანტიბიოტიკის მიმართ)

ჩატარებულმა კვლევამ გამოავლინა, რომ შესწავლილი სალმონელოზური კულტურების უმრავლესობა ხასიათდება ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაღალი ხარისხით. (ცხრ. 5).

ცხრილი 5

S. typhimurium-ის შტამების მგრძობელობის შესწავლა სხვადასხვა ანტიბიოტიკების მიმართ

#	შტამი #	ამპიცილინი	ქლორამფენიკ	გენტამიცინი	ციპროფლოქს	ტეტრაციკლინი	ტრიმეთოპრიმი	კანამიცინი
1	<i>S typhimurium #2</i>	R	R	R	R	S	R	R
2	<i>S typhimurium #5</i>	R	R	I	R	R	R	R
3	<i>S typhimurium #8</i>	S	R	R	R	R	I	R
4	<i>S typhimurium #12</i>	I	R	I	R	R	R	R
5	<i>S typhimurium #14</i>	R	I	R	R	R	R	R
6	<i>S typhimurium #17</i>	I	I	R	R	R	I	R
7	<i>S typhimurium #20</i>	R	R	R	R	I	S	R
8	<i>S typhimurium #21</i>	R	R	R	S	R	R	R
9	<i>S typhimurium #26</i>	S	R	R	S	R	S	R
10	<i>S typhimurium #28</i>	S	I	R	R	S	R	R
11	<i>S typhimurium #31</i>	R	R	I	R	R	R	R
12	<i>S typhimurium #33</i>	R	R	I	R	R	R	R
13	<i>S typhimurium #38</i>	R	R	R	S	R	R	R
14	<i>S typhimurium #40</i>	S	I	I	R	I	R	S
15	<i>S typhimurium #44</i>	S	I	I	R	R	S	S
16	<i>S typhimurium #60</i>	R	R	S	R	R	S	R
17	<i>S typhimurium #65</i>	S	R	S	S	R	S	R
18	<i>S typhimurium #69</i>	R	R	R	R	R	R	R
19	<i>S typhimurium #70</i>	R	I	S	I	S	S	R
20	<i>S typhimurium #72</i>	R	R	S	I	R	S	R

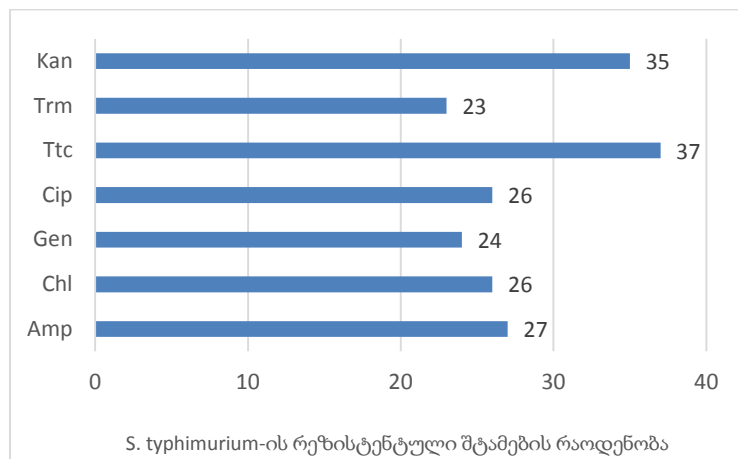
21	<i>S typhimurium #73</i>	R	S	R	S	R	R	R
22	<i>S typhimurium #77</i>	I	I	R	I	S	R	R
23	<i>S typhimurium #79</i>	R	S	R	I	R	R	I
24	<i>S typhimurium #82</i>	R	S	R	R	R	I	R
25	<i>S typhimurium #85</i>	R	R	R	R	R	I	R
26	<i>S typhimurium #87</i>	I	R	R	S	R	R	I
27	<i>S typhimurium #91</i>	R	R	S	R	R	R	R
28	<i>S typhimurium #93</i>	R	R	S	I	S	I	I
29	<i>S typhimurium #95</i>	R	S	R	R	R	S	R
30	<i>S typhimurium #99</i>	R	R	S	R	R	S	R
31	<i>S typhimurium #101</i>	R	S	R	R	R	R	S
32	<i>S typhimurium #102</i>	R	R	I	S	R	R	R
33	<i>S typhimurium #103</i>	S	R	R	R	R	I	R
34	<i>S typhimurium #104</i>	I	S	I	S	R	R	S
35	<i>S typhimurium #105</i>	R	I	R	R	R	S	R
36	<i>S typhimurium #106</i>	I	I	S	S	R	I	I
37	<i>S typhimurium #107</i>	R	S	R	R	R	S	S
38	<i>S typhimurium #108</i>	R	R	R	S	R	R	R
39	<i>S. typhimurium #111</i>	S	S	R	R	S	R	S
40	<i>S. typhimurium #112</i>	S	R	I	S	R	S	R
41	<i>S. typhimurium #113</i>	S	R	I	R	R	I	R
42	<i>S. typhimurium#114</i>	I	S	I	S	R	R	S
43	<i>S. typhimurium #115</i>	R	I	S	R	R	S	R
44	<i>S. typhimurium #116</i>	S	R	S	S	R	I	R
45	<i>S. typhimurium #117</i>	I	S	R	S	R	S	R
46	<i>S. typhimurium #118</i>	R	R	I	S	I	R	R

R-რეზისტენტული, I-გარდამავალი, S-მგრძობიარე

მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ *S. typhimurium*-ის 46 შტამიდან 27 (58%) იყო რეზისტენტული ამპიცილინის მიმართ, 26 (56%) - ქლორამფენიკოლის, 24 (52%) - გენტამიცინის, 26 (56%) - ციპროფლოქსაცინის, 37 (80%) - ტეტრაციკლინის, 23 (50%) - ტრიმეთოპრიმის, 35 (76%) - კანამიცინის მიმართ. ყველა შტამმა აჩვენა პოლირეზისტენტობა ცდაში გამოყენებული ანტიბიოტიკების მიმართ. ერთმა შტამმა *S. typhimurium* #69 გამოავლინა რეზისტენტობა ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ. 6 შტამმა - ##12, 14, 20, 31, 85 და 87 გამოავლინა გარდამავალი მგრძობელობა 1 ან 2 ანტიბიოტიკის მიმართ, ხოლო დანარჩენი ანტიბიოტიკების მიმართ იყვნენ რეზისტენტული (ცხრილი 5, დიაგრამა 6,7,8).

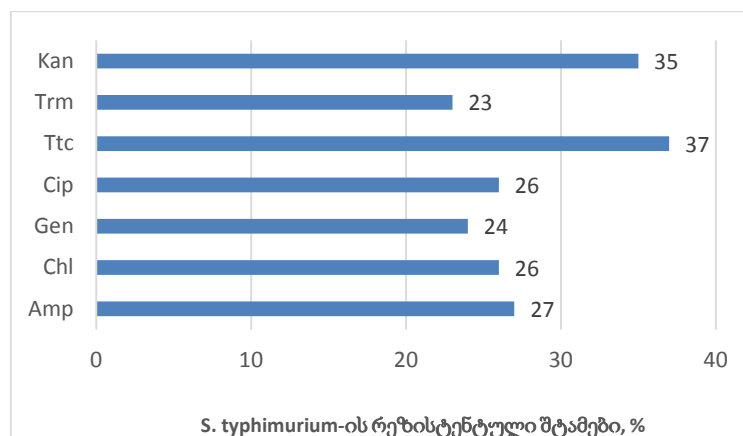
დიაგრამა #6

S. typhimurium-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის რაოდენობრივი მაჩვენებლები

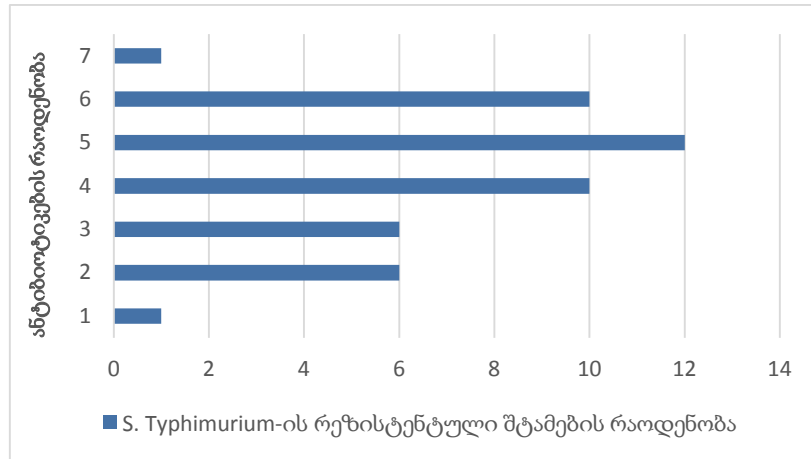


დიაგრამა #7

S. typhimurium-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის პროცენტული მაჩვენებლები



S. typhimurium-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის მაჩვენებლები ანტიბიოტიკების რაოდენობის მიხედვით

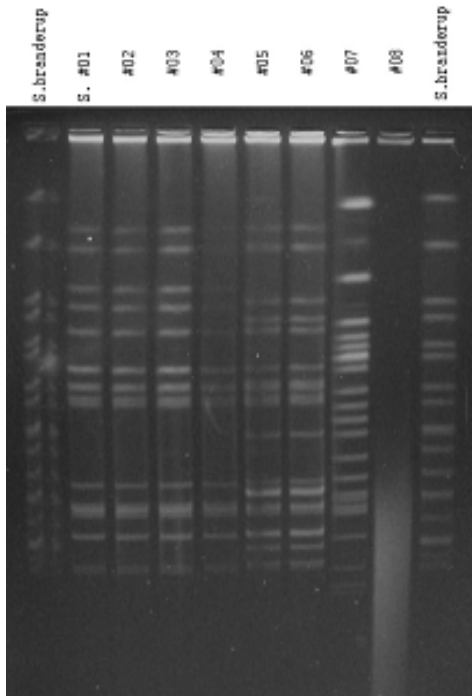


როგორც დიაგრამიდან ჩანს, შერჩეული *S. typhimurium*-ის შტამები ხასიათდებიან ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის სხვადასხვა დონით.

3.1.3. სალმონელას კულტურების მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

3.1.3.1. ლაბორატორიის კოლექციის *S. typhimurium*-ის შტამების დნმ-ის მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

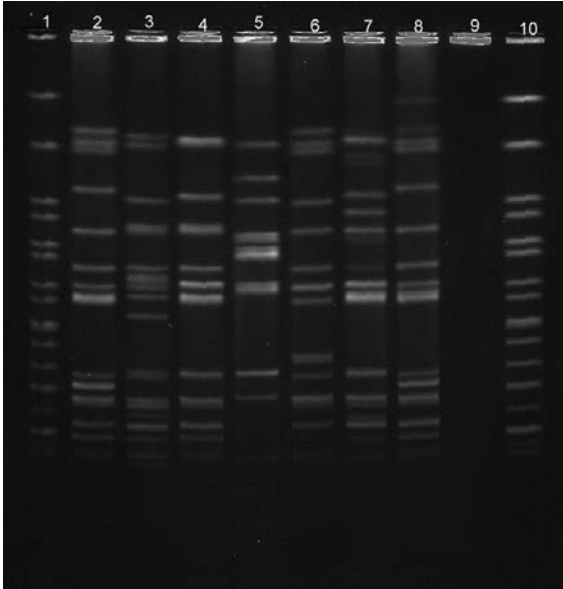
კოლექციაში არსებული *S. typhimurium*-ის შტამების მოლეკულურ-ბიოლოგიური შესწავლისათვის ჩვენ გამოვიყენეთ პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდი. ამ მიზნით შესასწავლი შტამების დნმ წინასწარ დავამუშავეთ რესტრიქციული ფერმენტით XbaI. როგორც შესწავლამ ცხადყო სალმონელოზური შტამები #01, #02, #03, #04 ხასიათდებოდნენ იდენტური PFGE პროფილით, შტამები #05, #06 განსხვავებული პროფილებით, ასევე განსხვავებული იყო შტამ #07-ის პროფილი. ხოლო შტამ #08 ის ტიპირება მოცემული ფერმენტით ვერ მოხერხდა.



სურ 11. *S. typhimurium*-ის შტამების დნმ-ს მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდით XbaI რესტრიქციული ფერმენტით დამუშავების შემდეგ. ხაზი 1 და 10 წარმოადგენს სტანდარტული შტამის *S. branderup*-ის დნმ-ს. ხაზები 2-8 საკოლექციო შტამების დნმ-ის ფრაგმენტებს

3.1.3.2. ახლად გამოყოფილი *S. typhimurium*-ის შტამების დნმ-ის მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით

ახლად გამოყოფილი სალმონელური შტამების სუბტიპების შესწავლის მიზნით ჩვენ მიერ განხორციელდა სხვადასხვა წყაროდან გამოყოფილი შტამების დნმ-ის PFGE პროფილების შესწავლა პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით XbaI რესტრიქციული ფერმენტით.



სურ 12. *S. typhimurium*-ის შტამების მოლეკულური სუბტიპირება პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის მეთოდით მათი დნმ-ის XbaI რესტრიქციული ფერმენტით დამუშავების შემდეგ. ხაზი 1 და 10 წარმოადგენს სტანდარტული შტამის *S. branderup*-ის დნმ-ს. ხაზები 2-8 ახლად გამოყოფილი სალმონელოზური შტამების დნმ-ს (ხაზი 2- *S. typhimurium* #111, ხაზი 3- *S. typhimurium* #112, ხაზი 4- *S. typhimurium* #113, ხაზი 5- *S. typhimurium* #114, ხაზი 6- *S. typhimurium* #115, ხაზი 7- *S. typhimurium* #116, ხაზი 8- *S. typhimurium* #117, ხაზი 9- *S. typhimurium* #118).

როგორც წარმოდგენილი სურათიდან ჩანს, შტამები #111 და #117 აჩვენებენ მსგავს PFGE პროფილებს. ორივე შტამის დნმ დაიჭრა თანაბარი ზომის და რაოდენობის ფრაგმენტებად. აგრეთვე სტარტიდან დაცილების მანძილი არის თანაბარი. დანარჩენი შტამების პროფილები განსხვავებულია, შედგება განსხვავებული ზომის და რაოდენობის დნმ-ს ფრაგმენტებისგან, რაც მიუთითებს იმას, რომ ისინი მიეკუთვნებიან სხვადასხვა სუბტიპებს. შტამ *S. typhimurium* #118-ის ტიპირება წარმოდგენილი ფერმენტით ვერ მოხერხდა.

ამოცანა 2. საკვებისმიერი სალმონელების საწინააღმდეგო ფაგების გამოყოფა, შესწავლა და ეფექტური ფაგური კოქტეილის შექმნა

3.2. სალმონელას შტამების მიმართ ეფექტური ბაქტერიოფაგების სელექცია, გამოყოფა და შესწავლა

3.2.1. ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული ბაქტერიოფაგების სელექცია

ჩვენი კვლევის შემდგომ ამოცანას წარმოადგენდა სალმონელას შტამების მიმართ ეფექტური ბაქტერიოფაგების სელექცია, გამოყოფა და შესწავლა. ჩვენს სამუშაოში გამოვიყენეთ როგორც გ. ელიავას ბაქტერიოფაგის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის გამოყენებითი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის

კოლექციაში არსებული სალმონელას ბაქტერიოფაგები, ასევე ჩვენს მიერ გამოყოფილი ახალი ფაგები. ჩვენი მიზანი იყო შეგვეჩინა მაღალი აქტივობის და არასრულადგადამფარავი ფართო სპექტრის მქონე ბაქტერიოფაგები სალმონელების საწინააღმდეგო ეფექტური ფაგური კოქტეილის შესაქმნელად.

ცხრილ 6-ში მოცემულია ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული ფაგების ეფექტურობა ჩვენს მიერ გამოყოფილი და ასევე საკოლექციო სალმონელას შტამების მიმართ.

ცხრილი 6

12 სალმონელა ბაქტერიოფაგის ეფექტურობა *S. typhimurium*-ის შტამების მიმართ

ბაქტერიოფაგები	ლიზირებული <i>S. typhimurium</i> შტამების რიცხვი (46-დან)
vB_Stm.Shis 1	8
vB_Stm.Shis 13	10
vB_Stm 16	11
vB_Stm 17	14
vB_Stm 18	13
vB_Stm 19	8
vB_Stm20	10
vB_Stm21	12
vB_Stm.My 28	7
vB_Stm 29	15
vB_Stm 512	9
vB_Stm.My 760	6

მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ ფაგებმა ##17, 18, 21 და 29 გამოავლინეს მაღალი ლითიური აქტივობა.

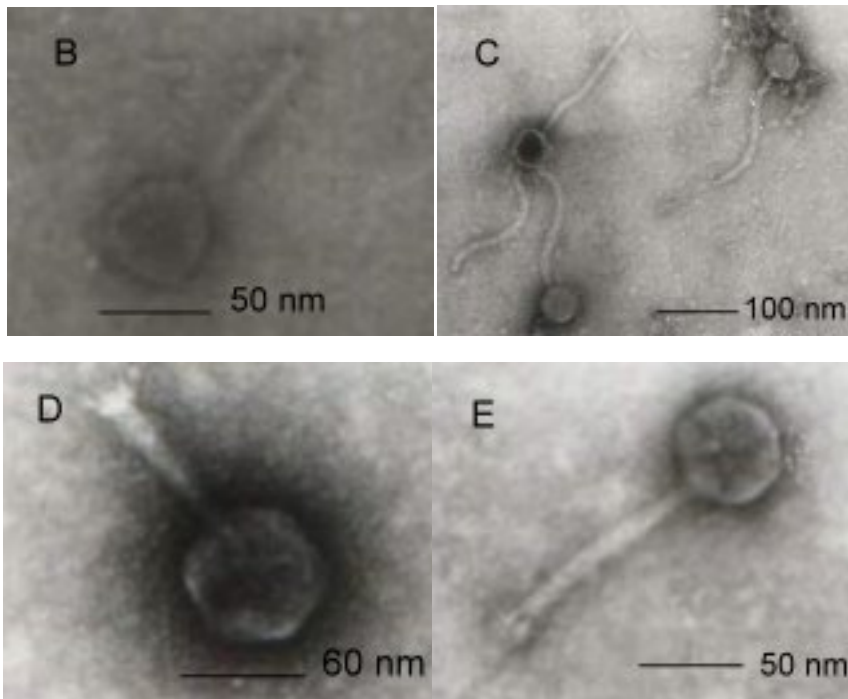
ცხრილებში წარმოდგენილი შედეგების მიხედვით შევარჩიეთ ოთხი ფაგი შემდგომი კვლევებისათვის (##vB_Stm 17, vB_Stm 18, vB_Stm 21, vB_Stm 29) პოლივალენტური ფაგის მოსამზადებლად.

3.2.2. ლაბორატორიის კოლექციიდან შერჩეული ბაქტერიოფაგების დახასიათება

3.2.2.1. ლაბორატორიის კოლექციიდან შერჩეული ბაქტერიოფაგების მორფოლოგია

შერჩეული *Salmonella*-ს ბაქტერიოფაგების ელექტრონული მიკროსკოპით კვლევის შედეგად მოვახდინეთ კლასიფიკაცია. ფაგებს, vB_Stm 17 და vB_Stm 21 ქონდათ ცილინდრული კუდი სპირალური ფორმის, დიამეტრით 10-20 ნმ. ფაგის კუდის სიგრძე მერყეობდა 75-95 ნმ, თავის დიამეტრი 50-60 ნმ. აღნიშნული ფაგები მიეკუთვნებიან *Myoviridae*-ს ოჯახს. ფაგებს, vB_Stm 18 და vB_Stm 29 ქონდათ ვიწრო, გრძელი,

არაკუმშვადი კუდი იზომეტრული თავით. vB_Stm 18 ფაგის კუდის სიგრძე იყო 190 ნმ, ხოლო თავის დიამეტრი 50 ნმ. vB_Stm 29 ფაგის კუდის სიგრძე იყო 100 ნმ, ხოლო თავის დიამეტრი 45 ნმ. ორივე ფაგი მიეკუთვნებიან *Siphoviridae*-ს ოჯახს (სურ. 13, ცხრილი 7).



სურ 13. ფაგების B - vB_Stm 17, C - vB_Stm 18, D - vB_Stm 21, E - vB_Stm 29 ელექტრონული მიკროფოტოგრაფია

ცხრილი 7

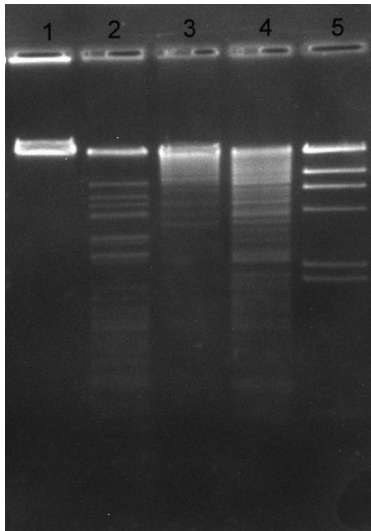
შერჩეული *Salmonella*-ს ფაგების მორფოლოგიური დახასიათება

ბაქტერიოფაგი	თავის დიამეტრი, ნმ	თავის სიგრძე, ნმ	კუდის დიამეტრი, ნმ	კუდის სიგრძე, ნმ	ოჯახი
vB_Stm 17	50	60	15	95	<i>Myoviridae</i>
vB_Stm 18	50	50	15	190	<i>Siphoviridae</i>
vB_Stm 21	60	60	10	75	<i>Myoviridae</i>
vB_Stm 29	45	45	15	100	<i>Siphoviridae</i>

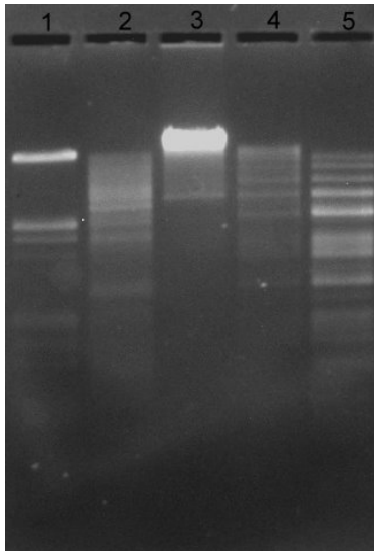
3.2.2.2. შერჩეული ბაქტერიოფაგების დნმ-ს რესტრიქციული პროფილების შესწავლა

შერჩეული *Salmonella*-ს ბაქტერიოფაგების დნმ-ის შედარებითი შესწავლისათვის განვახორციელეთ ამ ფაგებიდან გამოყოფილი დნმ-ს რესტრიქციული ანალიზი.

Salmonella-ს ბაქტერიოფაგებიდან გამოყოფილი დნმ დავყავით ფრაგმენტებად რესტრიქციული ენდონუკლეაზების Hind III და EcoRI მეშვეობით და ფრაგმენტის ნიმუშები შევადარეთ. ოთხი *Salmonella*-ს ფაგის რესტრიქციული ანალიზის შედეგად გამოვლინდა, რომ რეატრიქტაზა Hind III არ მოქმედებდა ფაგ 29-ზე, ხოლო დანარჩენ 3 ფაგს ჭრიდა განსხვავებული პროფილებით. განსხვავება კიდევ უფრო გამოკვეთილი იყო EcoRI რესტრიქტაზის გამოყენების შემთხვევაში. 4 შესწავლილი ბაქტერიოფაგის დნმ-ს გააჩნდა აღნიშნული რესტრიქტაზის ამოცნობის საიტი და ყველა მათგანი ხასითდებოდა EcoRI მოქმედების შედეგად მიღებული განსხვავებული რესტრიქციული პროფილების არსებობით.



სურ 14. ფაგების რესტრიქციული ანალიზი ჰორიზონტალური გელ-ელექტროფორეზით 1%-იანი აგაროზას გელის გამოყენებით და ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის შემდეგ. ფაგების დნმ დავამუშავეთ რესტრიქტაზით *Hind* III (ხაზი 1 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 29 დნმ, ხაზი 2 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 21 დნმ, ხაზი 3 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 18 დნმ, ხაზი 4 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 17 დნმ და ხაზი 5 - ბაქტერიოფაგის Lambda დნმ).



სურ 15. ფაგების რესტრიქციული ანალიზი ჰორიზონტალური გელ-ელექტროფორეზით 1%-იანი აგაროზას გელის გამოყენებით და ეთიდიუმ ბრომიდით შეღებვის შემდეგ. ფაგების დნმ დავამუშავეთ რესტრიქტაზით *EcoRI* – (ხაზი 1 – ბაქტერიოფაგ Lambda დნმ, ხაზი 2 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 17 დნმ, ხაზი 3 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 18 დნმ, ხაზი 4 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 21 დნმ და ხაზი 5 ბაქტერიოფაგის vB_Stm 29 დნმ).

3.2.3. ახალი ბაქტერიოფაგების გამოყოფა და ეფექტური ფაგების შერჩევა

სამუშაოს მსვლელობის დროს მოხდა ახალი ბაქტერიოფაგების გამოყოფა მდინარე მტკვრის ჩამდინარე წყლიდან. სამუშაოს პერიოდში გამოყოფილი 8 ახალი სალმონელოზური ბაქტერიოფაგიდან შეირჩა 4 ბაქტერიოფაგი, რომლებიც ხასიათდებოდნენ მაღალი ეფექტურობით და სტაბილური ლიზისის უნარით.

ცხრილი 8

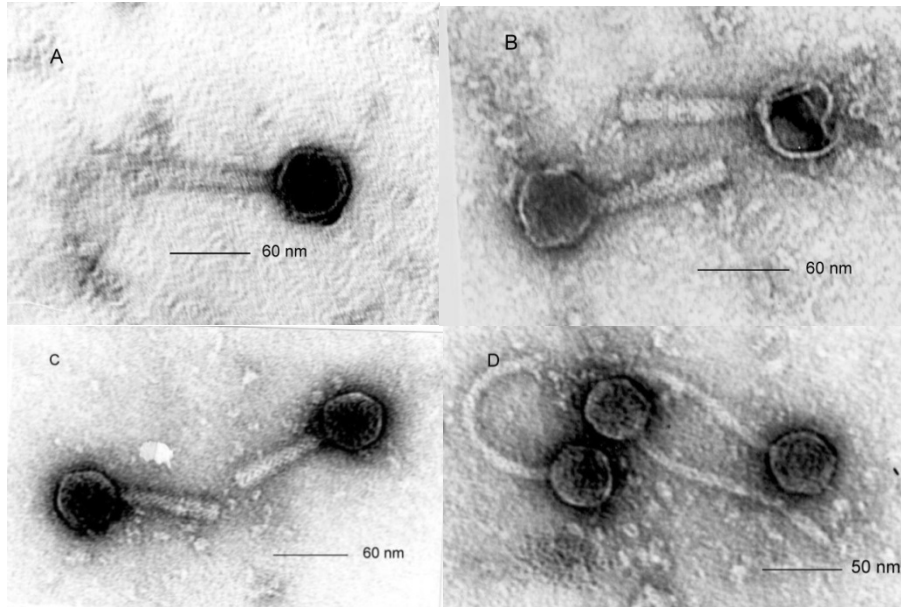
ახლად გამოყოფილი *Salmonella*-ს ფაგები

No	ბაქტერიოფაგი	მასპინძელი უჯრედი	გამოყოფის წყარო
1	vB_Stm 116	<i>S. typhimurium</i> #116	ჩამდინარე წყალი “მტკვარი”
2	vB_Stm 114	<i>S. typhimurium</i> #114	ჩამდინარე წყალი “მტკვარი”
3	vB_Stm 113	<i>S. typhimurium</i> #113	ჩამდინარე წყალი “მტკვარი”
4	vB_Stm 118	<i>S. typhimurium</i> #118	ჩამდინარე წყალი “მტკვარი”

3.2.4. ახლად გამოყოფილი ბაქტერიოფაგებიდან შერჩეული *Salmonella*-ს ფაგების დახასიათება

3.2.4.1. ახლად გამოყოფილი *Salmonella*-ს ფაგების მორფოლოგიური დახასიათება

ახლად გამოყოფილი *Salmonella*-ს ფაგების TEM შესწავლის შედეგად მოვახდინეთ მათი კლასიფიკაცია (სურ. 16, ცხრილი 9).



სურ 16. ფაგების A vB_Stm 116, B – vB_Stm 114, C – vB_Stm 113, D – vB_Stm 118 ელექტრონული მიკროფოტოგრაფია.

vB_Stm 116, vB_Stm 114, და vB_Stm 113 ფაგებს ქონდათ კუმშვადი კუდი. კუდის სიგრძე მერყეობდა 80-90 ნმ და თავის დიამეტრი შეადგენდა 50-60 ნმ. ეს ფაგები მიეკუთვნებოდნენ *Myoviridae*-ს ოჯახს. vB_Stm 118 ფაგს ქონდა ვიწრო, გრძელი, არაკუმშვადი კუდი იზომეტრული თავით. კუდის სიგრძე იყო 140 ნმ და თავის დიამეტრი - 45 ნმ. ეს ფაგი მიეკუთვნება *Siphoviridae*-ს ოჯახს.

ცხრილი 9

შერჩეული *Salmonella*-ს ფაგების მორფოლოგიური თვისებები

ფაგი	თავის დიამეტრი, ნმ	თავის სიგრძე, ნმ	კუდის დიამეტრი, ნმ	კუდის სიგრძე, ნმ	ოჯახი
vB_Stm 116	50	60	15	90	<i>Myoviridae</i>
vB_Stm 114	50	50	15	90	<i>Myoviridae</i>
vB_Stm 113	60	60	15	80	<i>Myoviridae</i>
vB_Stm 118	45	45	10	140	<i>Siphoviridae</i>

3.2.4.2. ახლადგამოყოფილი *Salmonella*-ს ფაგების ლიზისური სპექტრის განსაზღვრა

ცდაში გამოვიყენეთ *S. typhimurium*-ის 46 შტამი შერჩეული 8 სალმონელას ფაგის მასპინძელი უჯრედების სპექტრის დასადგენად. vB_Stm 113 და vB_Stm 118 ფაგები ხასიათდებოდნენ მასპინძელი უჯრედების ყველაზე ფართო სპექტრით. მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ vB_Stm 113 ფაგი ახდენდა 46-დან 36 შტამის სრულ ლიზისს (82,6%). vB_Stm 118 ფაგის ლითიური აქტივობა იყო მაღალი vB_Stm 113 ფაგთან შედარებით. vB_Stm 118 ფაგმა მოახდინა 46-დან 43 შტამის ლიზისი (93,4%) (ცხრილი 10).

ცხრილი 10

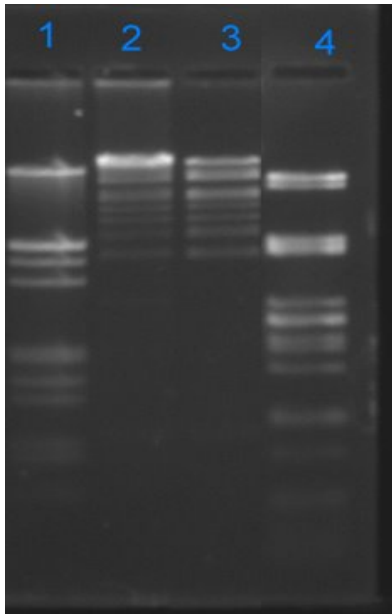
Salmonella-ს ფაგების მასპინძელი უჯრედების სპექტრი

შემოწმებული <i>S.typhimurium</i> ფაგები	სულ აღებული <i>S.typhimurium</i> შტამები	ლიზირებული <i>S. typhimurium</i> შტამების რიცხვი	ლიზირებული <i>S.typhimurium</i> შტამები, % სულ შემოწმებული შტამების
vB_Stm 113	46	36	82,6
vB_Stm 114		32	69,5
vB_Stm 116		31	67,4
vB_Stm 118		43	93,4

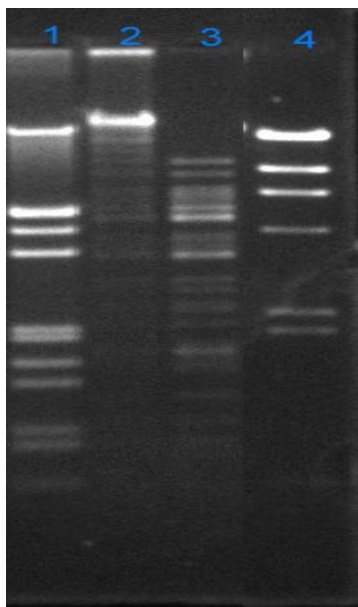
შემდგომი კვლევებისათვის შევარჩიეთ მაღალი ლითიური აქტივობის მქონე ორი ფაგი vB_Stm 113 და vB_Stm 118.

3.2.4.3. შერჩეული ახლადგამოყოფილი სალმონელას ფაგების რესტრიქციული ანალიზი

Hind III რესტრიქციული ენდონუკლეაზის მეშვეობით ჩატარებული რესტრიქციული ანალიზის შედეგად მივიღეთ vB_Stm 113 და vB_Stm 118 ფაგების დნმ-ის თანაბარი ზომის ფრაგმენტები. EcoRI ენდონუკლეაზით ჩატარებული რესტრიქციის შედეგად გამოვლინდა განსხვავებები ორი ფაგის დნმ-ს შორის.



სურ 17. vB_Stm 113 და vB_Stm 118 ფაგების დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზის შედეგები მიღებული ენდონუკლეაზა Hind III. ხაზი 1 - მარკერი (ბაქტერიოფაგ Lambda დნმ EcoRI/Hind III ფრაგმენტი); ხაზი 2 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 113 დნმ; ხაზი 3 - ბაქტერიოფაგის vB_Stm 118 დნმ; ხაზი 4 - ბაქტერიოფაგ Lambda დნმ.



სურ 18. ბაქტერიოფაგების vB_Stm 113 და vB_Stm 118 დნმ-ის რესტრიქციული ანალიზის შედეგები მიღებული ენდონუკლეაზა EcoRI.

3.2.5. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობის განსაზღვრა კანდიდატი ბაქტერიოფაგების შერჩევის მიზნით

შევამოწმეთ შვიდი სალმონელას ფაგი მაღალი ლითიური აქტივობის და ეფექტური პოლივალენტური ფაგის კოქტიელის მოსამზადებლად. თითოეული ფაგის ლითიურობის სპექტრი ნაჩვენებია ცხრილში.

ცხრილი 11

შერჩეული სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა ინსტიტუტის კოლექციაში არსებული *S. typhimurium*-ის შტამების მიმართ

ფაგები	vB_Stm 17	vB_Stm 18	vB_Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 114	vB_Stm 116	vB_Stm 118
<i>S. typhimurium</i> შტამები	ლიზისის ეფექტურობა						
#2							
#5							
#8							
#12							
#14							
#17							
#20							
#21							
#26							
#28							
#31							
#33							
#38							
#40							
#44							

*მუქი ფერი მიუთითებს გამჭვირვალე ზონების არსებობაზე, თეთრი ფერი - გამჭვირვალე ზონების არ არსებობაზე.

შერჩეული სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა ჩვენს მიერ საკვები პროდუქტებიდან გამოყოფილი *S. typhimurium*-ის შტამების მიმართ

ფაგები	vB_Stm 17	vB_Stm 18	vB_Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 114	vB_Stm 116	vB_Stm 118
<i>S.typhimurium</i> შტამები	ლიზისის ეფექტურობა						
#101							
#102							
#103							
#104							
#105							
#106							
#107							
#108							
#60							
#65							
#69							
#70							
#72							
#73							
#77							
#79							
#82							
#85							
#87							
#91							
#93							
#95							
#99							
#111							
#112							
#113							
#114							
#115							
#116							
#117							
#118							

*მუქი ფერი მიუთითებს გამჭვირვალე ზონების არსებობაზე, თეთრი ფერი - გამჭვირვალე ზონების არ არსებობაზე.

როგორც ცხრილებიდან ჩანს, ორი სალმონელას ფაგი vB_Stm 113 და vB_Stm 118 ხასიათდებოდნენ სალმონელას გვარის მიკროორგანიზმების მიმართ ფართო სპეციფიკურობით. დამატებით, ინსტიტუტის კოლექციიდან აღებული ფაგიც vB_Stm 21 აგრეთვე ხასიათდებოდა ფართო სპექტრის სპეციფიკურობით. ეს 3 ბაქტერიოფაგი

შევარჩიეთ ფაგური კოქტეილის შესაქმნელად. შევისწავლეთ კანდიდატი ბაქტერიოფაგების თვისებები.

3.2.6. ფაგური კოქტეილის შესაქმნელად შერჩეული ფაგების თვისებების შესწავლა

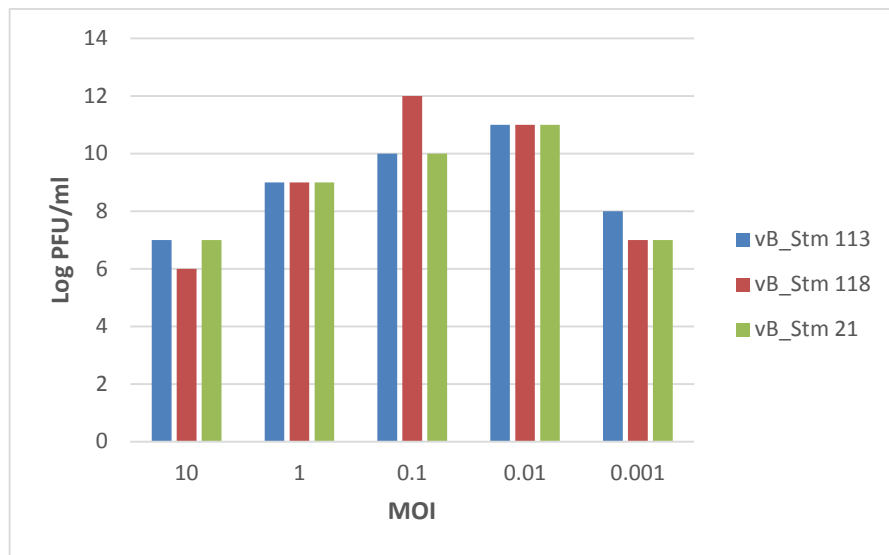
3.2.6.1. ფაგის ზრდის თვისებების შესწავლა

3.2.6.1.1. ფაგების ინფექციის მრავლობითობის ოპტიმალური მაჩვენებლის შესწავლა

შევისწავლეთ ფაგების vB_Stm 21, vB_Stm 113 და vB_Stm 118 ინფიცირების ოპტიმალური მრავლობითობა (MOI). ფაგებისთვის vB_Stm 113 და vB_Stm 21 იგი შეადგენდა 0,01, ხოლო vB_Stm 118-თვის 0,1-ს. აღნიშნული მაჩვენებლები საშუალებას იძლეოდა მიგველო ფაგი მაქსიმალური ტიტრით, 10^{10} PFU/ml vB_Stm 113-ის და vB_Stm 21 შემთხვევაში და 10^{11} PFU/ml vB_Stm 118-ის შემთხვევაში.

დიაგრამა #9

ფაგების ინფიცირების ოპტიმალური მრავლობითობის (MOI) შესწავლა



ფაგების ტიტრი განისაზღვრებოდა პატრონ უჯრედების ფაგით ინოკულაციიდან 4 სთ-ის შემდეგ.

3.2.6.1.2. ფაგის ადსორბციის სიჩქარე და გამრავლების ერთჯერადი ციკლის შესწავლა

Salmonella ფაგების ადსორბციის სიჩქარე განვსაზღვრეთ შერევით/ინკუბაციით ფაგის და *Salmonella* უჯრედების და შემდგომ, არაადსორბირებული ფაგები გამოვაცალკევით, სერიულად განვაზავით და დავითვალეთ. როგორც გამოჩნდა ფაგის ინოკულაციის საწყის ეტაპზე, ფაგის ნაწილაკების ადსორბცია ბაქტერიულ უჯრედებზე მერყეობდა 11-15 წთ (ცხრილი 13).

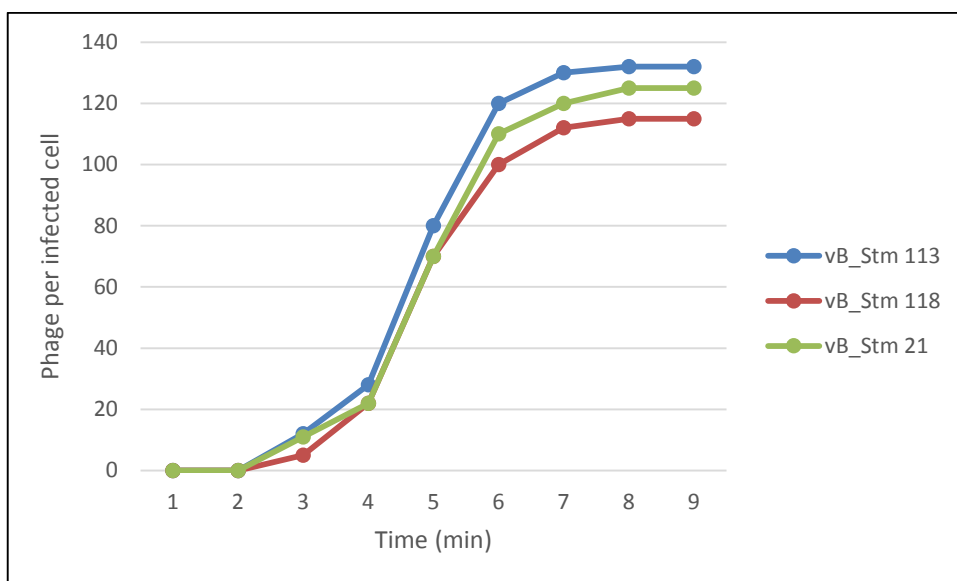
შერჩეული სალმონელას ფაგების და ბაქტერიული უჯრედების ურთიერთქმედების ფაზები

ფაგები	მასპინძელი შტამები	ადსორბცია (წთ)	ლატენტური პერიოდი (წთ)	გამოსავლიანობა ფაგის რაოდენობა ერთ უჯრედზე
vB_Stm 113	<i>S.typhimurium 113</i>	11 ± 2.0	22±4.2	130±8.0
vB_Stm 118	<i>S.typhimurium 118</i>	15 ± 2.8	26±5.8	115±5.4
vB_Stm 21	<i>S.typhimurium #26</i>	11-14	22-28	125-130

ლატენტური პერიოდი და ფაგების გამოსავლიანობა განვსაზღვრეთ გამრავლების ერთჯერადი ციკლის მრუდის ანალიზის საშუალებით. ლატენტური პერიოდი, განსაზღვრული როგორც დროის ინტერვალი ბაქტერიულ უჯრედებზე ფაგის ადსორბციასა და პირველი შეჭრის დასაწყისს შორის, შეადგენდა 22-28 წთ, რაც მიჩნეულია შედარებით ხანგრძლივ დროდ. vB_Stm 113 ფაგის გამოსავლიანობა იყო მაღალი vB_Stm 118 და vB_Stm 21 ფაგთან შედარებით (დიაგრამა 10).

დიაგრამა #10

ფაგების გამრავლების ერთჯერადი ციკლის ამსახველი მრუდი

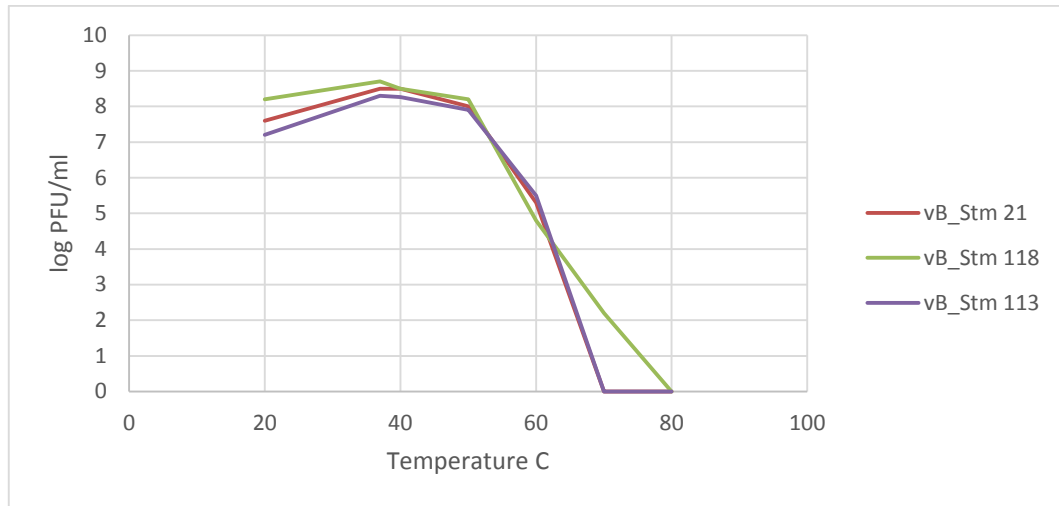


3.2.6.2. შერჩეული *Salmonella*-ს ფაგების თერმო და pH სტაბილურობა

ფაგები ინარჩუნებდნენ აქტივობას pH 4-9. თუმცა სამივე ფაგის აქტივობა მცირდებოდა pH <4 და pH >11. ფაგების ტიტრის მნიშვნელოვანი შემცირება არ დაფიქსირებულა 20°C - 50°C ინკუბაციის შემდეგ. თუმცა ფაგის ტიტრი შემცირდა მნიშვნელოვნად 60°C-ზე და ნულს მიაღწია 70°C-ზე.

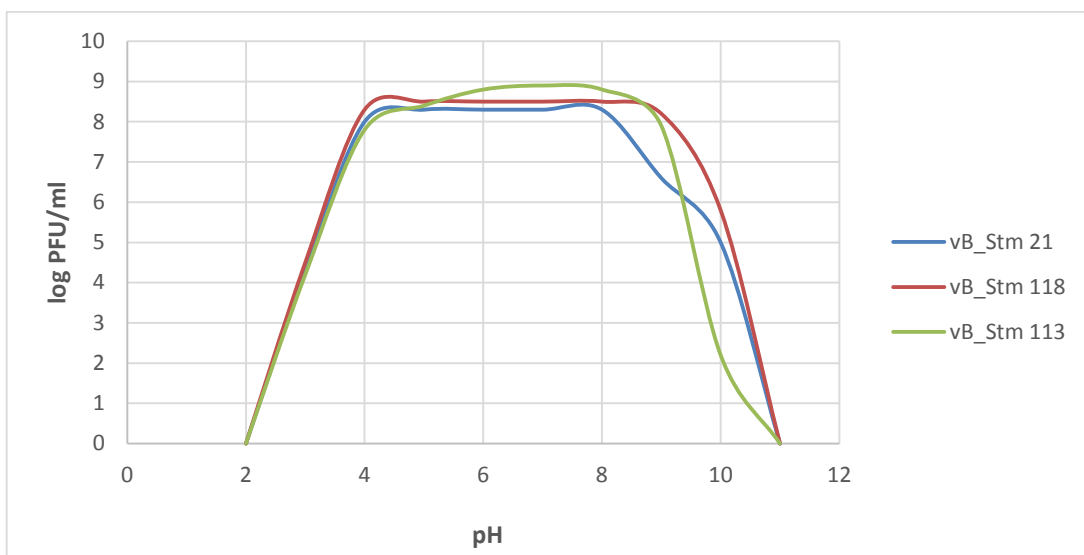
დიაგრამა #11

ფაგების თერმოსტაბილურობა



დიაგრამა #12

ფაგების აქტივობაზე pH-ის გავლენა

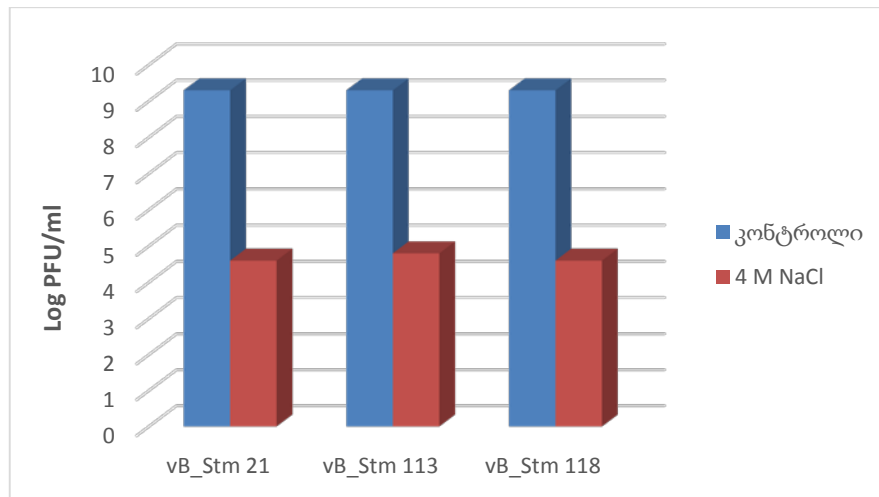


3.2.6.3. ოსმოსური შოკის გავლენა ბაქტეროფაგებზე

შესწავლილი იქნა ოსმოსური შოკის გავლენა ფაგების სიცოცხლისუნარიანობაზე. 4 mol/L NaCl განზავებული სალმონელას ფაგების სიცოცხლისუნარიანობა შემცირდა 75-78%, 2 mol/L საქაროზას ხსნარი იწვევდა სალმონელას ფაგების სიცოცხლისუნარიანობის შემცირებას 50%-ით (დიაგრამა 13, 14).

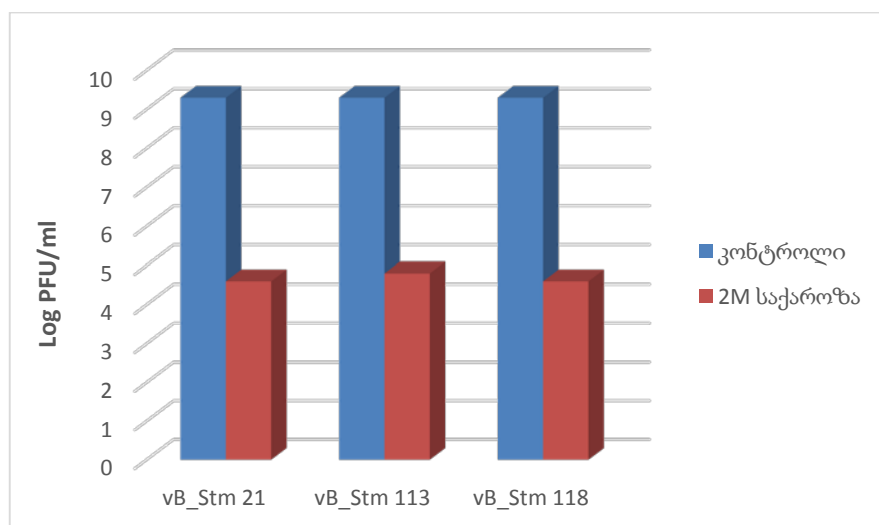
დიაგრამა #13

4 mol/L NaCl-ის გავლენა ფაგებზე



დიაგრამა #14

2 mol/L საქაროზას გავლენა ფაგებზე



3.2.6.4. სალმონელას ფაგების ეფექტურობა სალმონელას სხვა სეროტიპების მიმართ

შერჩეული სალმონელას ფაგები vB_Stm 113, vB_Stm 118, და vB_Stm 21 შევამოწმეთ სალმონელას სხვადასხვა სეროტიპის 13 შტამზე. შედეგები მოცემულია ცხრილში.

ცხრილი 14

ბაქტერიოფაგების ლითიური აქტივობა სალმონელას სხვადასხვა სეროტიპების მიმართ

<i>Salmonella</i> შტამები	ბაქტერიოფაგები		
	vB-Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 118
<i>S. paratyphi A</i>	Tur/pl	Cl/pl	Tur/pl
<i>S. paratyphi B</i>	Tur/pl	Cl/pl	Tur/pl
<i>S. anatum 5709</i>	Tur/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. oranienburg 5901</i>	Cl/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. newport 50</i>	Cl/pl	Cl/pl	Cl/pl
<i>S. heidelberg 250</i>	Cl/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. enteritidis 1</i>	Tur/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. enteritidis 443</i>	Tur/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. enteritidis 1291</i>	Cl/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. enteritidis 34/39</i>	Cl/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. choleraesuis 16</i>	Cl/pl	Tur/pl	Tur/pl
<i>S. choleraesuis 542</i>	Tur/pl	Tur/pl	Cl/pl
<i>S. choleraesuis 390</i>	Cl/pl	Tur/pl	Cl/pl

*Cl/pl - სრული ლიზისი (Clear plaque), Tur/pl - არასრული ლიზისი (Turbid plaque)

მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ შემოწმებული სამი ფაგიდან, ინსტიტუტის კოლექციიდან აღებული ფაგი vB_Stm 21 და ახლად გამოყოფილი ფაგი vB_Stm 118 ხასიათდებოდნენ მეტი აქტიურობით ცდაში გამოყენებული სალმონელას შტამების

მიმართ ახლად გამოყოფილ vB_Stm 113 ფაგთან შედარებით. vB-Stm 21 ფაგმა გამოავლინა მაღალი ლითიური აქტივობა სალმონელას 7-დან 5 სეროტიპის მიმართ. სულ აქტიური იყო 13-დან 7 სალმონელას შტამის მიმართ. vB_Stm 118 ფაგი ავლენდა ლითიურ აქტივობას 7-დან 6 სეროტიპის მიმართ და მაღალი ლითიურობით გამოირჩეოდა 13-დან 8 სალმონელას შტამის მიმართ. თუმცა ამ ფაგების მასპინძელი უჯრედის სპეციფიკურობა იდენტური არ იყო. vB_Stm 113 ფაგი ავლენდა ყველაზე სუსტ აქტივობას სალმონელას სეროტიპების მიმართ სხვა შერჩეულ ფაგებთან შედარებით. მაღალი ეფექტურობა გამოავლინა 7-დან 2 სალმონელას სეროტიპის მიმართ და მოახდინა მხოლოდ 3 შტამის სრული ლიზისი 13 შტამიდან. თუმცა vB_Stm 113 ფაგმა აჩვენა მაღალი ლითიური აქტივობა *S. paratyphi A&B* მიმართ, მაშინ როცა არც vB_Stm 21 ფაგმა და არც vB_Stm 118, არ გამოაღინეს ლითიური აქტივობა ამ შტამების მიმართ. უნდა აღინიშნოს, რომ ცდაში მონაწილე ბაქტერიოფაგები ავლენდნენ გარკვეულ აქტივობას თითქმის ყველა წარმოდგენილი შტამის მიმართ.

3.2.6.5. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა სხვადასხვა გრამ-დადებითი და გრამ-უარყოფითი პათოგენების მიმართ

შევამოწმეთ vB_Stm 113, vB_Stm 118 და vB_Stm 21 ფაგების ლითიური აქტივობა გრამ-დადებითი და გრამ-უარყოფითი პათოგენური ბაქტერიების მიმართ.

ცხრილი 15

vB_Stm 113, vB_Stm 118 და vB_Stm 21 ფაგების ლითიური აქტივობა გრამ-უარყოფით პათოგენებზე

ბაქტერიოფაგები	vB_Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 118
ბაქტერიული შტამები	ლიზისი ფაგებით		
<i>E.coli</i> #15	-	-	-
<i>E.coli</i> #19	-	-	-
<i>E.coli</i> #17	-	-	-
<i>E.coli</i> #20	-	-	-
<i>E coli</i> #21	-	-	-
<i>E coli</i> #22	-	-	-
<i>E.coli</i> #210	-	-	-
<i>E.coli</i> #215	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> #1	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> #2	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> #5	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> #35	-	-	-
<i>Sh. flexneri</i> #5436	-	-	-
<i>Sh. sonnei</i> #4	-	-	-
<i>Sh. sonnei</i> #36	-	-	-
<i>Sh. sonnei</i> #114	-	-	-

vB_Stm 113, vB_Stm 118 და vB_Stm 21 ფაგების ლითიური აქტივობა გრამ-დადებით პათოგენებზე

ბაქტერიოფაგები	vB_Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 118
ბაქტერიული შტამები	ლიზისი ფაგებით		
<i>S. aureus O15</i>	-	-	-
<i>S. aureus Wood</i>	-	-	-
<i>S. aureus #3</i>	-	-	-
<i>S. aureus #4</i>	-	-	-
<i>S. aureus #7</i>	-	-	-
<i>S. aureus #10</i>	-	-	-
<i>S. aureus #12</i>	-	-	-
<i>S. aureus #14</i>	-	-	-
<i>Str. pyogenes #1</i>	-	-	-
<i>Str. pyogenes #2</i>	-	-	-
<i>Str. pyogenes #3</i>	-	-	-
<i>Str. pyogenes #4</i>	-	-	-
<i>Str. pyogenes #33</i>	-	-	-
<i>Str. agalactiae 13</i>	-	-	-
<i>Str. mitis #21</i>	-	-	-
<i>Str. mutans #34</i>	-	-	-
# 1886/12-G	-	-	-
# 1887/12-G	-	-	-
# 1888/12-G	-	-	-
<i>L. seeligeri # 1889/12-G</i>	-	-	-
<i>L. ivanovii 1890/12-G</i>	-	-	-
<i>L. ivanovii # 1891/12-G</i>	-	-	-
<i>L. ivanovii # 1892/12-G</i>	-	-	-

ცხრილებში წარმოდგენილი შედეგები გვიჩვენებს, რომ სამი ფაგი, რომელიც ავლენდა მაღალ ლითიურ აქტივობას მრავალი *S. typhimurium* უჯრედების მიმართ, არ ავლენდა ლითიურობას სხვა გრამ-დადებითი და გრამ-უარყოფითი პათოგენების მიმართ.

3.2.6.6. სალმონელას ფაგების ლითიური აქტივობა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ნორმალური ფლორის მიმართ

როგორც ცნობილია, ბაქტერიოფაგების ერთ-ერთ მთავარ უპირატესობას, ანტიბიოტიკებთან შედარებით, წარმოადგენს ის, რომ ისინი სპეციფიკურად მოქმედებენ სამიზნე ბაქტერიებზე და არ ალიზირებენ ორგანიზმის ნორმალურ მიკროფლორას. ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა vB_Stm 113, vB_Stm 118, და vB_Stm 21 ფაგების ლითიური აქტივობა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ნორმალური ბაქტერიების მიმართ (ცხრილი 17).

ცხრილი 17



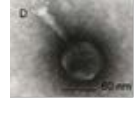
vB_Stm 113, vB_Stm 118 და vB_Stm 21 ფაგების ლითიური აქტივობა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ნორმალური ფლორის მიმართ

ფაგები	vB_Stm 21	vB_Stm 113	vB_Stm 118
ბაქტერიული შტამები	ლიზისი ფაგებით		
<i>Bifidobacterium bifidum</i> Ac-1246	-	-	-
<i>Bifidobacterium longum</i> Ac-1252	-	-	-
<i>Bifidobacterium adolescentis</i> Ac-	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i> B-2585	-	-	-
<i>Lactobacillus fermentum</i> B 7580	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> B 7583	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> M17 B 8208	-	-	-
<i>Enterococcus faecium</i> B 4054	-	-	-

ცხრილში წარმოდგენილი შედეგები გვიჩვენებს, რომ არანაირი ლითიური აქტივობა არ დაფიქსირდა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტისთვის დამახასიათებელი ნორმალური ბაქტერიების მიმართ. შერჩეული ფაგების დაბალი ლითიური აქტივობა, წარმოდგენილი მიკროორგანიზმების მიმართ, მიუთითებს იმაზე, რომ ფაგების, როგორც ანტიმიკრობული საშუალებების გამოყენება, არ არის ზიანის მომტანი ადამიანისა და ცხოველის ჯანმრთელობისათვის.

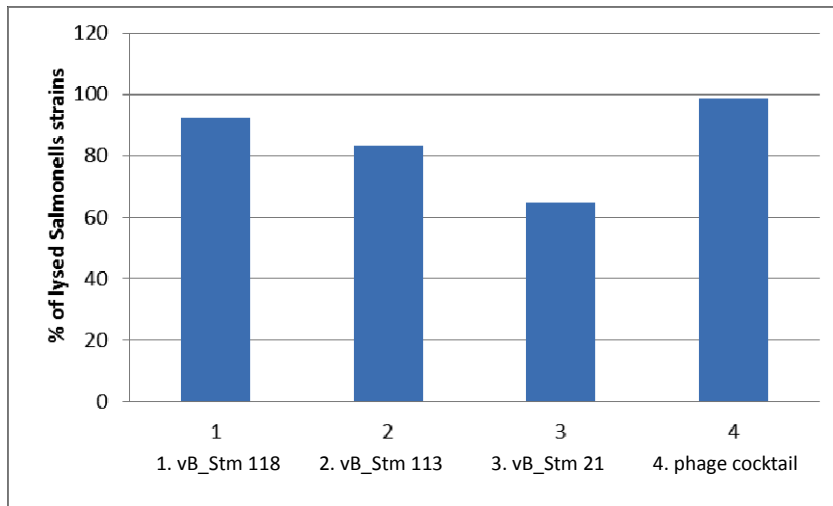
მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ შერჩეული სალმონელას ფაგები იყვნენ არა მხოლოდ ლითიური მრავალი *S. typhimurium* შტამების მიმართ, არამედ იყვნენ აგრეთვე ფართოდ სპეციფიკურები აღნიშნული შტამების მიმართ.

ცხრილში შეჯამებულია შერჩეული სალმონელას ფაგების თვისებები

გამოყოფის ადგილი	თბილისი, საქართველო		
ბაქტერიოფაგი	vB_Stm 113	vB_Stm 118	vB_Stm 21
გამოყოფის წყარო	ჩამდინარე წყალი	ჩამდინარე წყალი	მდინარე მტკვარი
მასპინძელი შტამი	<i>S.typhimurium</i> #113	<i>S. typhimurium</i> #118	<i>S.typhimurium</i> #26
გამოყოფის თარიღი	2012	2012	უცნობია
ოჯახი (TEM მიხედვით)	<i>Myoviridae</i> 	<i>Siphoviridae</i> 	<i>Myoviridae</i> 
რესტრიქციული პროფილი	EcoRI და HindIII ენდონუკლეაზით	EcoRI და HindIII ენდონუკლეაზით	უცნობია
ლიზირებული <i>S. typhimurium</i> შტამების რიცხვი (46-დან)	36	43	31
ლიზირებული non-salmonella გვარის პათოგენების რიცხვი (39-დან)	0	0	0
ლიზირებული პრობიოტიკური შტამების რიცხვი (8-დან)	0	0	0

3.2.7. ფაგის კოქტეილის მაღალი ეფექტურობის ფორმულირება და *Salmonella*-ს გვარის ფართო სპეციფიკურობა

კანდიდატი ბაქტერიოფაგების შესწავლის შედეგად სამივე ფაგმა გამოავლინა ეფექტურობა, სტაბილური ლიზისის უნარი, სპეციფიკურობა, მოქმედებდნენ მხოლოდ სალმონელას შტამებზე და არ ავლენდნენ აქტივობას სხვა პათოგენურ მიკრობებზე და აგრეთვე არ მოქმედებდნენ ორგანიზმის ნორმალურ ფლორაზე. ეს სამი ფაგი შევურიეთ თანაბარი რაოდენობით და გამოვიყენეთ კოქტეილის სახით. კოქტეილმაც გამოავლინა ფართო სპეციფიკურობა სალმონელების მიმართ. აღნიშნულმა კოქტეილმა მოახდინა 46-დან 45 (98%) მიკრობის ლიზისი.



სალმონელას თითოეული ფაგის და ამ ფაგებისაგან შემდგარი კოქტეილის მასპინძელი უჯრედების მიმართ სპეციფიკურობა

ამოცანა 3. სალმონელას საწინააღმდეგო ფაგების შემცველი მიკრო აეროზოლის გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა დეკონტამინაციისთვის

3.3. სალმონელების ბიოლოგიური კონტროლის გზები

3.3.1. აეროზოლის სახით ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობა სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციისათვის

ჩვენი კვლევის შემდგომ ეტაპს წარმოადგენდა ფაგების შემცველი მიკრო აეროზოლის გამოყენების შესწავლა და ამისათვის უჯრედზე დამოკიდებული ლაბორატორიული მოდელის შემუშავება და გამოყენება ფაგების ლითიური აქტივობის სადემონსტრაციოდ.

ექსპერიმენტისათვის გამოვიყენეთ *S. typhimurium 118*-ის უჯრედები, რომლებიც ჩავთესეთ ფინჯნებში მყარი საკვები არის ზედაპირზე და ასევე დავიტანეთ და გავაშრეთ წინასწარ რძით დამუშავებულ მიკროსკოპულ მინაზე (კუპონებზე).

მოცულობითი დეკონტამინაციისთვის გამოვიყენეთ წვრილდისპერსიული აეროზოლის (მშრალი ნისლის) გენერაციის ტექნოლოგია, რომლის შემადგენლობაშიც შედის ხსნარი. ჩვენს შემთხვევაში მიკროაეროზოლის შესაქმნელად გამოვიყენეთ ეგრეთ წოდებული კომპრესორული ნებულაიზერი (Happyneb II, GIMA S.p.A., Italy), რომლის მეშვეობითაც ჰაერის მძლავრი ნაკადი წნევით 1.1 ბარი (~16 psi) მიეწოდება სითხის რეზერვუარს, რაც იწვევს სითხის დაშლას ძალიან მცირე ზომის ნაწილაკებად

(დიამეტრი $\sim 2\mu\text{m}$). ასეთი ფორმით შედის ხსნარი საკვლევ კამერაში და ნისლის ფორმით ნაწილდება მთელ მოცულობაში. ნაწილაკების მცირე ზომა ასევე განაპირობებს მიკრობთან შეხების ზედაპირის ზრდას, რაც თავის მხრივ ასევე ზრდის პრეპარატის ეფექტურობას. ექსპერიმენტისათვის გამოვიყენეთ *Salmonella*-ს საწინააღმდეგო ფაგი vB_Stm 118 $\sim 10^9$ PFU/ml.

ყველა ნიმუში მოვათავსეთ დახურულ 5,5 ლიტრი მოცულობის მქონე პლასტმასის კამერაში და მიკროაეროზოლს, რომელიც შეიცავდა *Salmonella*-ს ფაგს vB_Stm 118 ვაფრქვევდით კამერაში მასზე დამაგრებული ნებულაიზერის საშუალებით (კონტეინერი #1). პარალელურად იმავე ტიპის კამერაში საკონტროლო კუპონებს და ფინჯნებს ვამუშავებდით იმავე მეთოდით და პირობებით ფაგის გარეშე (კონტეინერი #2).

კონტეინერ #1-ში ფაგის შემცველი აეროზოლი შეიყვანებოდა 60 წუთის განმავლობაში (რეზერვუარში არსებული თითქმის მთელი მოცულობა ხსნარი). ერთი საათის შემდეგ აპარატს ვრთავდით და სინჯები დახურულ კონტეინერში იმყოფებოდა კიდევ ერთ საათს. ამრიგად, აეროზოლის ექსპოზიციის საერთო დრო შეადგენდა 2 საათს.

კონტეინერ #2-ში აეროზოლი, რომელიც ფაგს არ შეიცავდა მიეწოდებოდა იგივე პირობებით და ექსპოზიციის დრო ამ შემთხვევაშიც იყო 2 საათი.

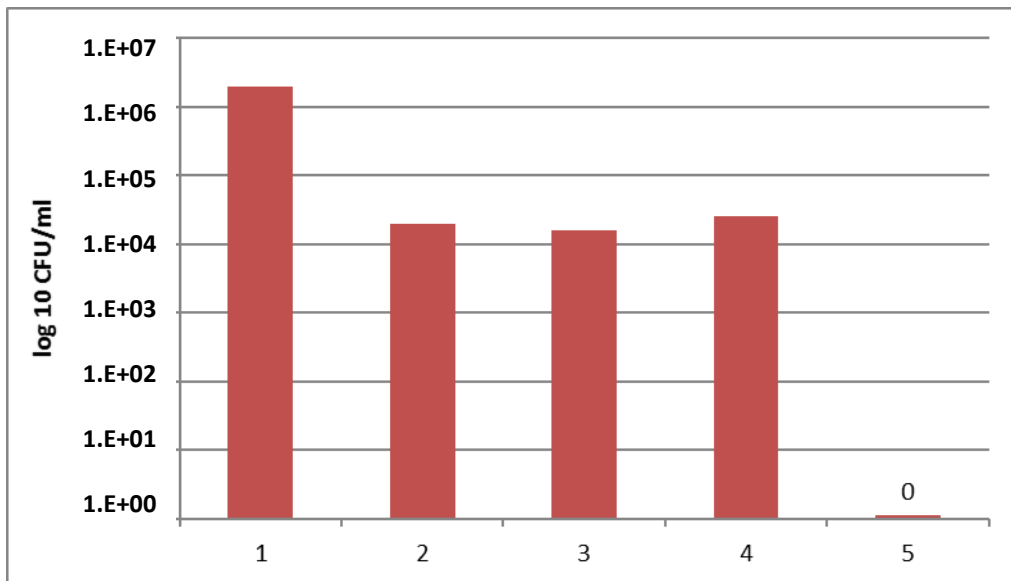


სურ 19. ექსპერიმენტული კამერა, რომელთანაც მიერთებულია ნებულაიზერი ფაგის მიკროაეროზოლის შესაქმნელად. (მარჯვნიდან მარცხნივ: 1- მიკროაეროზოლის დიფუზია კამერაში, 2-3 - ფაგის მიკროაეროზოლით სავსე კამერა).

ცდაში გამოყენებული იქნა მრავლობითი კონტროლი, როგორცაა სხვადასხვა ზედაპირებზე უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობის შესწავლა ფაგით დამუშავების გარეშე, სინჯების ფაგის არ შემცველი აეროზოლით დამუშავება და სხვა. როგორც საკონტროლო, ასევე საცდელ კუპონებს ვათავსებდით 15 მლ სტერილურ პეპტონიანი წყლის შემცველ ერთჯერად 50 მლ მოცულობის სინჯარებში და ვორტექსის საშუალებით ვანჯღრევდით 20 წმ. შემდეგ თითოეულ კუპონს ვიღებდით სინჯარიდან სტერილურად და დამატებით ხდებოდა ჩამორეცხვა 5 მლ პეპტონიანი წყლით. კუპონების ჩამორეცხვის შედეგად მიღებულ 20 მლ ხსნარს სერიულად 10-ჯერადად ვახავებდით. ამ განზავებებიდან 100-100 მკლ ხსნარი დაგვეკონდა სამჯერადად ფინჯნებზე და ვახდენდით ინკუბაციას $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 24 საათის განმავლობაში დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედების დასათვლელად.

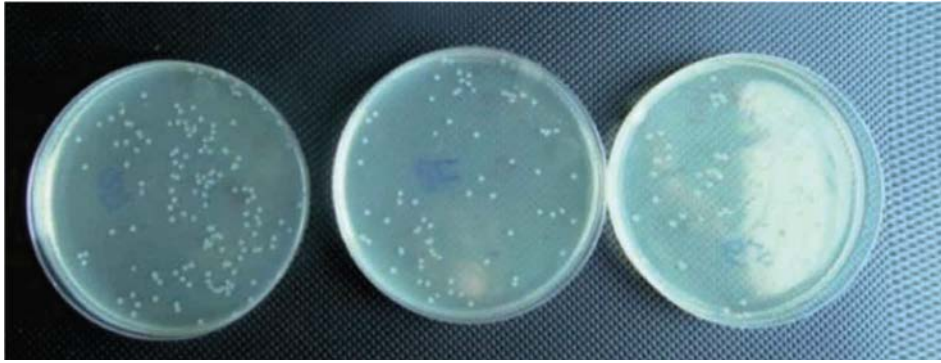
მიღებული შედეგები მოცემულია დიაგრამაზე და სურათებზე.

მიკროაეროზოლის მოქმედების ეფექტურობის შესწავლა კუპონებზე ჩათესილ *S. typhimurium 118*-ის უჯრედებზე

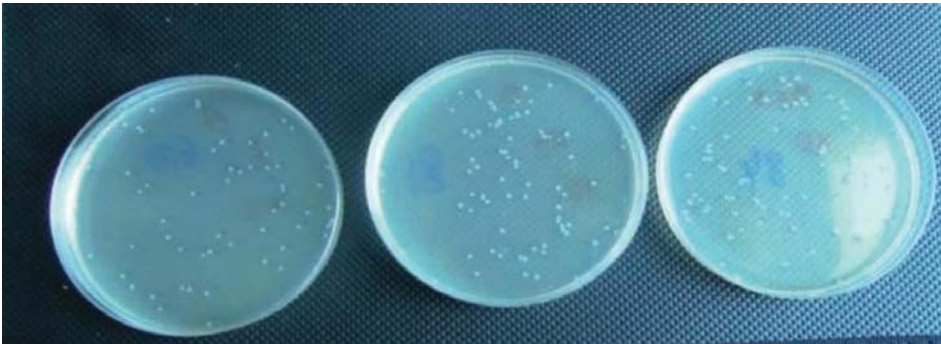


1. კუპონზე ჩათესილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები
2. გაშრობის შემდეგ დაუყოვნებლივ შესწავლილი დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები
3. გაშრობის შემდეგ 2 საათის დაყოვნების შემდეგ შესწავლილი დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები
4. ფაგის არ შემცველი მიკროაეროზოლის ექსპოზიციის შედეგად დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები
5. ფაგის შემცველი მიკროაეროზოლის ექსპოზიციის შედეგად დარჩენილი სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები

დიაგრამა გვიჩვენებს, რომ 4 მლ ფაგის ხსნარით დამუშავების შედეგად ხდებოდა ყველა ბაქტერიული უჯრედის განადგურება.



სურ 20. გაშრობის შემდეგ დაუყოვნებლივ ჩამორეცხილი კუპონები



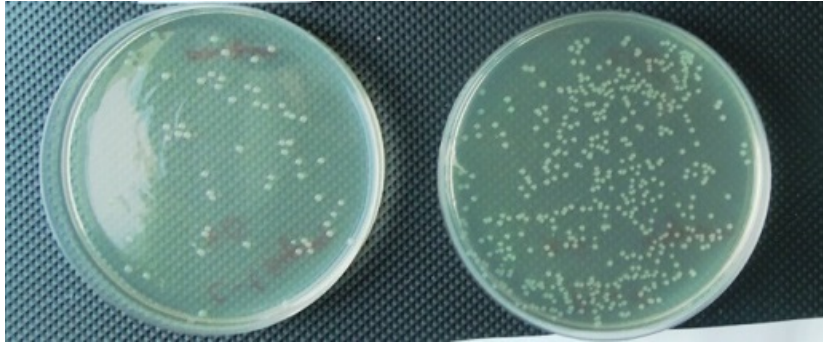
სურ 21. კუპონები დამუშავებული ფაგის არ შემცველი ხსნარით 60 წთ-ის განმავლობაში და დაყოვნებული 60 წთ-ით



სურ 22. კუპონები დამუშავებული ფაგის შემცველი ხსნარით 60 წთ-ის განმავლობაში და დაყოვნებული 60 წთ-ით

სურათები გვიჩვენებს, რომ ფაგის შემცველი ხსნარით 1 საათიანი დამუშავების და შემდეგ კიდევ 1 საათი დაყოვნების შემდეგ ფინჯნებზე არ შეინიშნებოდა მიკრობის სიცოცხლისუნარიანი უჯრედები. ამავე დროს, დაუყოვნებლივ ჩამონარეცხვის და ორი საათის დაყოვნების შემდგომ ჩამონარეცხის ფინჯნებზე ინკუბაციის შედეგად შეინიშნებოდა კულტურის მნიშვნელოვანი ზრდა (საშუალოდ 95 და 77 კოლონია პეტრის ფინჯანზე).

კუპონებზე საკონტროლო ხსნარით დამუშავების შემდეგ (საკვები ხსნარი+buffer) (□), შეინიშნებოდა უფრო მკვეთრი ზრდა, ვიდრე კუპონებზე, რომელიც 2 სთ-ის განმავლობაში მოთავსებული იყო ბიოლოგიური უსაფრთხოების კამერაში (□). შედარება წარმოდგენილია სურათზე (სურ. 23).



სურ 23. კუპონები B (მარცხნივ) და კუპონები A (მარჯვნივ)

ეს შეიძლება აიხსნას ტენიანობით, მაშინ როდესაც ჯგუფის კუპონები მოთავსებული იყო ბიოლოგიური უსაფრთხოების კამერაში, სადაც ჰაერი მშრალია.

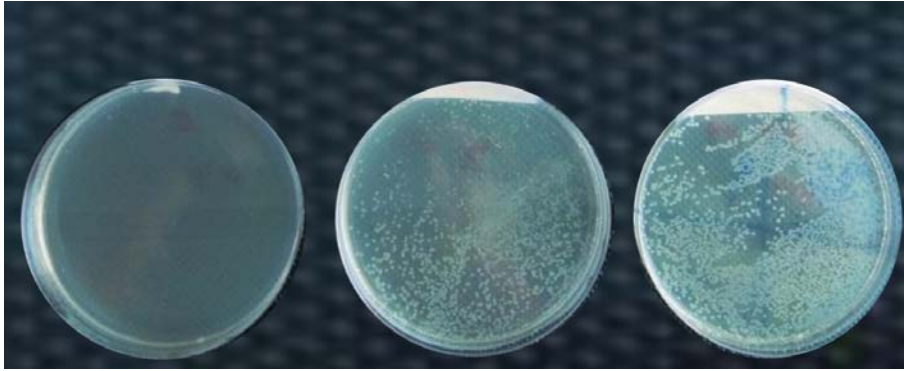
ცხრილი 19

S.typhimurium 118-ის ზრდის შედეგები

	ფინჯანზე ჩათესილი უჯრედები, მკლ	ჩათესილი უჯრედების კონც. ჩ <input type="checkbox"/> უჯრ.	ფინჯნებზე უჯრედების ზრდა
ფინჯანი 1	100	4×10^4	ზრდა არ დაფიქსირდა
ფინჯანი 2	100	4×10^4	მიკრობის ზრდა მთელ ზედაპირზე (გაზონი)
ფინჯანი 3	100	4×10^4	მიკრობის ზრდა მთელ ზედაპირზე (გაზონი)

- 1 - კულტურები ფაგით დამუშავების შემდეგ
- 2 - კულტურები საკონტროლო ხსნარით დამუშავების შემდეგ
- 3 - საკონტროლო კულტურები დამუშავების გარეშე

ცხრილი გვიჩვენებს, რომ ფინჯნებზე, სადაც ჩათესილი იყო *S. typhimurium* 118-ის კულტურა ტიტრით 4×10^4 (ფინჯანი 1), არ შეინიშნებოდა ზრდა, მაშინ როდესაც საკონტროლო ფინჯნებზე (2 და 3) იყო მიკრობის ზრდა მთელ ზედაპირზე (გაზონი).



სურ 24. ფინჯნებზე ჩათესილი *S. typhimurium 118*-ის კულტურა ტიტრით 4×10^4 თითოეულ ფინჯანზე: (ფინჯანი 1) დამუშავებული ფაგით 60 წთ. და დაყოვნებული 60 წთ-ზე მეტი დროით; (ფინჯანი 2) დამუშავებული საკონტროლო ხსნარით 60 წთ. და დაყოვნებული 60 წთ-ზე მეტი დროით; ფინჯანი 3 - კონტროლი (ფინჯნები მიკრო აეროზოლით დამუშავების გარეშე).

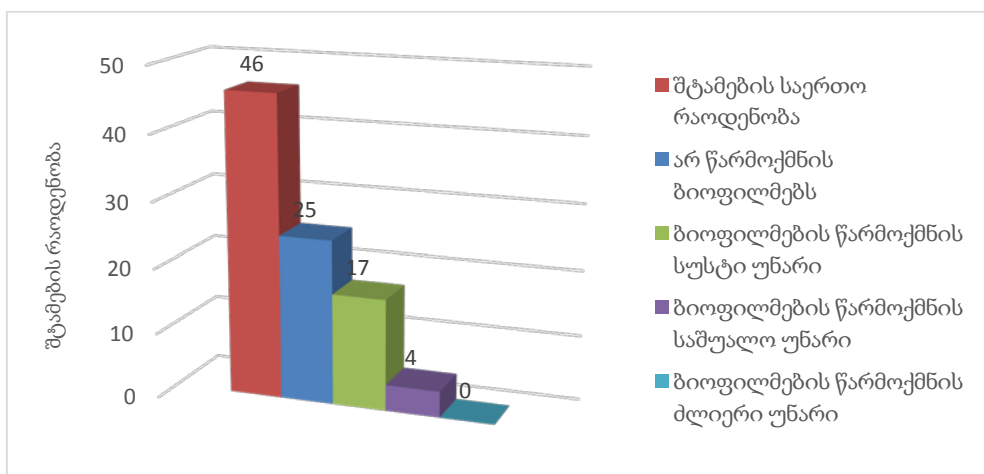
ამოცანა 4. ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობის შესწავლა ბიოფილმების წინააღმდეგ

3.3.2. ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე ბაქტერიოფაგების მოქმედების შესწავლა

ჩვენი სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა სალმონელების ბიოფილმის წარმოქმნის უნარისა და ბაქტერიოფაგების ბიოფილმების საწინააღმდეგოდ გამოყენების შესაძლებლობების შესწავლა. ჩვენს მიერ შესწავლილი სალმონელების შტამები არ ხასიათდებოდნენ ბიოფილმების წარმოქმნის ძლიერი უნარით (დიაგრამა 17), რაც შეიძლება იმით აიხსნას, რომ ჩვენ ვახდენდით მიკრობების გამოყოფას მხოლოდ საკვები პროდუქტებიდან და არა გარემო და საწარმოო არეებიდან.

დიაგრამა #17

სალმონელას შტამების მიერ ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი



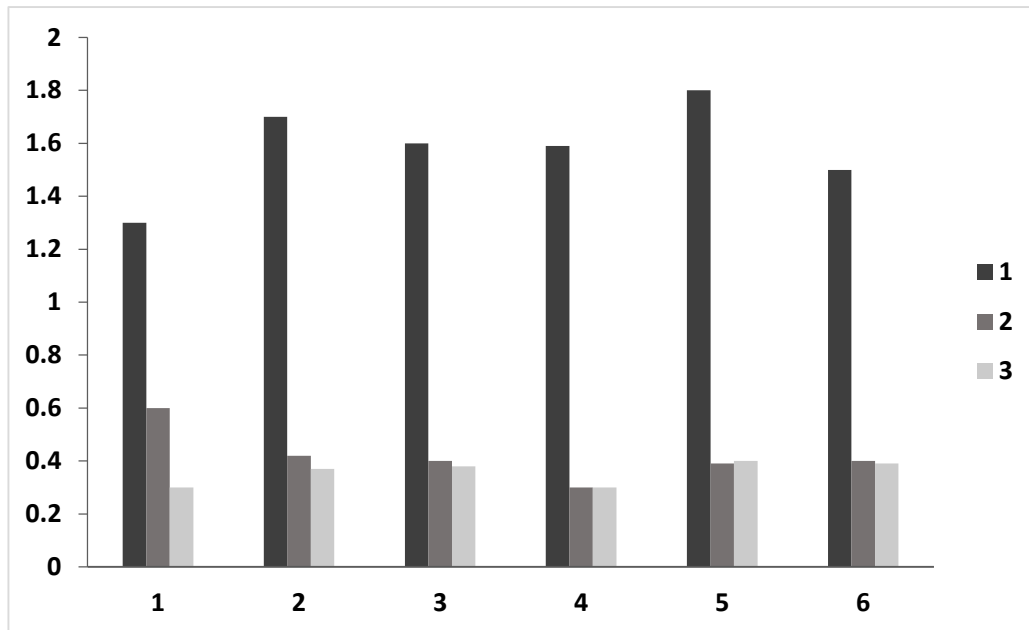
რადგანაც ჩვენს მიერ გამოყოფილი შტამები ხასიათდებოდნენ ბიოფილმის წარმოქმნის სუსტი უნარით და ფაგების ეფექტურობის მიუხედავად, ვერ მივიღეთ სტატისტიკურად სარწმუნო შედეგები ($p > 0.05$), ბიოფილმებზე ფაგის მოქმედების ეფექტურობის შესასწავლად მოდელურ ნიმუშად გამოყენებული იქნა ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული *P. aeruginosa*-ს შტამები და ფაგები. წინასწარი შესწავლის დროს მათ გამოავლინეს ბიოფილმების წარმოქმნის ძლიერი უნარი და სწორედ *P. aeruginosa* ითვლება ეტალონურ მიკროორგანიზმად ბიოფილმების წარმოქმნის და კონტროლის შესწავლისთვის.

შევარჩიეთ ორი ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგი vB-Pa 4 და vB-Pa 5, რომლებიც ხასიათდებოდნენ ლიტიური აქტივობის ფართო სპექტრით, მიეკუთვნებოდნენ სხვადასხვა მორფოლოგიურ ჯგუფებს და განსხვავდებოდნენ მოლეკულურ-ბიოლოგიური თვისებებით.

ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების მოქმედების ექსპერიმენტული შესწავლის დროს გამოვიყენეთ კლინიკური იზოლატები - ადამიანის ორგანიზმიდან გამოყოფილი *P. aeruginosa*-ს 6 შტამი (№№ 80, 104, 211, 255, 380, 401), რომლებიც წინასწარი კვლევით, ხასიათდებოდნენ ანტიბაქტერიული პრეპარატების მიმართ პოლირეზისტენტობით, მგრძობელობით საკვლევი ბაქტერიოფაგების მიმართ და ბიოფილმების წარმოქმნის უნარით. შევისწავლეთ ფაგების მოქმედება როგორც ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე, ასევე უკვე ფორმირებულ ბიოფილმებზე.

დიაგრამა #18 გვიჩვენებს ბიოფილმების წარმოქმნას *P. aeruginosa*-ს სხვადასხვა პოლირეზისტენტული შტამების მიერ და vB-Pa 5 ფაგის უნარს ხელი შეუშალოს ბიოფილმების წარმოქმნას და აგრეთვე გაანადგუროს 96-უჯრედიანი პოლისტიროლის პლანშეტში შტამების კულტივირების დროს წარმოქმნილი ბიოფილმები. ბიოფილმების ბიომასის მატების ხარისხი ხასიათდებოდა ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებლის მიხედვით (540 ნმ) კრისტალ-ვიოლეტით შეღებვის შემდეგ და საღებავის ეთანოლთან ადსორბციით. vB-Pa 5 ფაგს ვამატებდით ტესტ შტამების 24-საათიანი კულტივირების შემდეგ იმისათვის, რომ შეგვესწავლა ფაგის მოქმედება უკვე ფორმირებულ ბიოფილმზე. იმისათვის, რომ შეგვესწავლა ბაქტერიოფაგების მიერ ბიოფილმების წარმოქმნის თავიდან აცილების უნარი, vB-Pa 5 ფაგს ვამატებდით პლანშეტის უჯრედებში ფსევდომონადური შტამების კულტივირებამდე 4 სთ-ით ადრე და დასაწყისში. როგორც დიაგრამიდან ჩანს, 48-საათიანი კულტივირების შედეგად, შტამები ხასიათდებოდნენ განსხვავებული, მაგრამ ბიოფილმების წარმოქმნის მაღალი უნარით. ფაგის წინასწარ დამატება პლანშეტის უჯრედებში (მიკროორგანიზმების სუსპენზიის შეტანამდე) თრგუნავდა ბიოფილმის ფორმირებას და ზოგიერთ შემთხვევაში პრაქტიკულად სრულად უშლიდა ხელს მათ ზრდას. ფაგის დამატება უკვე ფორმირებულ ბიოფილმებზე იწვევდა მათ ნაწილობრივ ან სრულ დესტრუქციას.

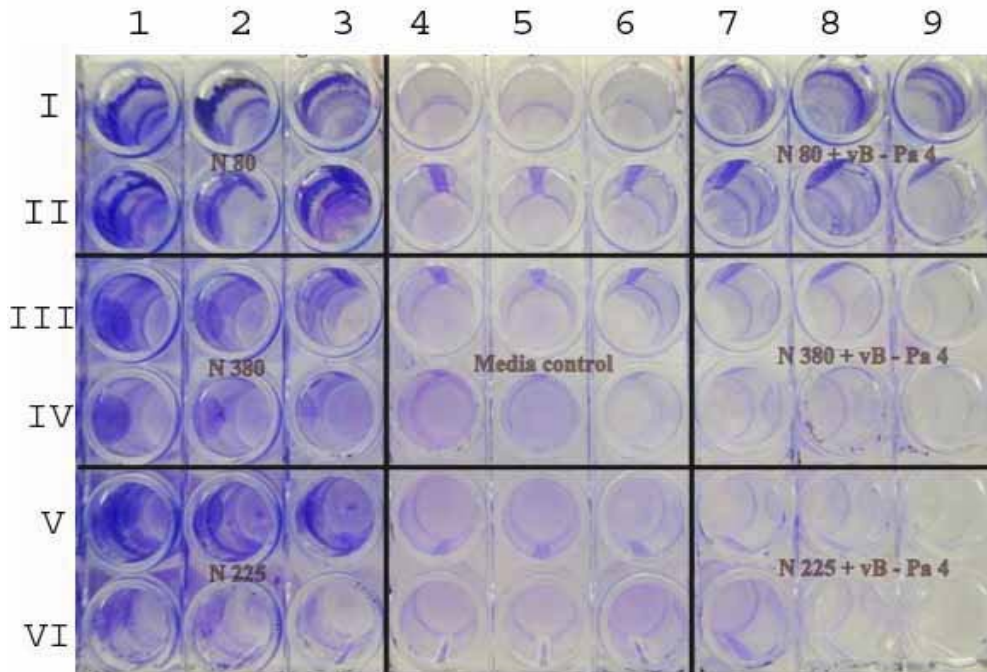
ბაქტერიოფაგ vB-Pa 5-ის მოქმედების ეფექტურობა *P. aeruginosa*-ს პოლირეზისტენტული შტამების მიერ ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე



1-*P. Aeruginosa* 80, 2-*P. aeruginosa* 104, 3-*P. aeruginosa* 211, 4-*P. aeruginosa* 225, 5-*P. aeruginosa* 380, 6-*P. aeruginosa* 401

1 - ეთანოლით ექსტრაგირებული საღებავის ოპტიკური სიმკვრივე 540 ნმ-ზე შტამების 48 საათიანი კულტივირების შემდეგ (ზრდის კონტროლი); 2 - ეთანოლით ექსტრაგირებული საღებავის ოპტიკური სიმკვრივე 540 ნმ-ზე (ფაგი დავამატეთ 24 სთ-ის განმავლობაში ფორმირებულ ბიოფილმებზე, ოპტიკური სიმკვრივე განვსაზღვრეთ შტამების 48 საათიანი კულტივირების შემდეგ); 3 - ეთანოლით ექსტრაგირებული საღებავის ოპტიკური სიმკვრივე 540 ნმ-ზე (ფაგი დავამატეთ პლანშეტის უჯრედებში შტამების შეტანამდე 4 საათით ადრე, ოპტიკური სიმკვრივე განვსაზღვრეთ შტამების 48 საათიანი კულტივირების შემდეგ); ($p < 0.05$ - კონტროლთან შედარებით).

აგრეთვე შევისწავლეთ vB-Pa 4 ფაგის მოქმედება ბიოფილმებზე, ფორმირებული *P. aeruginosa*-ს ჰოსპიტალური პოლირეზისტენტული შტამების (№№ 80, 225, 380) მიერ (სურ. 25). შედეგის ინტენსივობა როგორც საკვლევი, ასევე საკონტროლო უჯრედებში შტამებისათვის *P. aeruginosa* №№ 380 და 225 პრაქტიკულად არ განსხვავდებოდა, რაც ადასტურებს ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგის vB-Pa 4-ის მოქმედების ეფექტურობას ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე. *P. aeruginosa* № 80-ის შემთხვევაში უჯრედებში ფაგის დამატების შემდეგ ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებელი იყო საკონტროლო უჯრედების მაჩვენებელზე დაბალი, რაც ადასტურებს აღნიშნული შტამის მდგრადობას vB-Pa 4 ფაგის მიმართ.



სურ 25. vB-Pa 4 ფაგის ლიტიური მოქმედება *P. aeruginosa*-ს №№ 80, 225, 380 პოლირეზისტენტული შტამების მიერ ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე.

I-II რიგი: უჯრედები 1-3 - შტამი *P. aeruginosa* № 80 (ზრდის კონტროლი), უჯრედები 4-6 - საკონტროლო უჯრედები საკვები არით, უჯრედები 7-9 - ბაქტერიოფაგი vB-Pa 4 დამატებული პლანშეტის უჯრედებში ერთდროულად შტამ *P. aeruginosa* № 80-თან ერთად;

III-IV რიგი: უჯრედები 1-3 - შტამი *P. aeruginosa* № 380 (ზრდის კონტროლი), უჯრედები 4-6 - საკონტროლო უჯრედები საკვები არით, უჯრედები 7-9 - ბაქტერიოფაგი vB-Pa 4 დამატებული პლანშეტის უჯრედებში ერთდროულად შტამ *P. aeruginosa* № 380-თან ერთად;

V-VI რიგი: უჯრედები 1-3 - შტამი *P. aeruginosa* № 225 (ზრდის კონტროლი), უჯრედები 4-6 - საკონტროლო უჯრედები საკვები არით, უჯრედები 7-9 - ბაქტერიოფაგი vB-Pa 4 დამატებული პლანშეტის უჯრედებში ერთდროულად შტამ *P. aeruginosa* № 225-თან ერთად.

მიღებული შედეგები მიუთითებენ ფაგების გამოყენების პერსპექტივაზე როგორც ნოსოკომიალური, ასევე საკვებისმიერი პათოგენების ბიოკონტროლისათვის.

თავი IV

შედეგების განხილვა

უკანასკნელი 20 წლის განმავლობაში მკვეთრად გაიზარდა საკვებისმიერი დაავადებების რიცხვი. ჯანმრთელობის მსოფლიო ორგანიზაციის მონაცემებით, ყოველწლიურად მილიონზე მეტი ადამიანი იღუპება დიარეული დაავადებებისგან. ამ შემთხვევათა დიდი ნაწილი დაკავშირებულია სასმელი წყლის და საკვების კონტამინაციასთან [WHO, 2015].

საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი ძირითადი მიზეზი არის უმი და არაჰიგიენურად დამუშავებული საკვები პროდუქტები: ხორცი, კვერცხი, არაპასტერიზებული რძე, რომლებიც კონტამინირებულია თერმოფილური მიკროორგანიზმებით.

ნაწლავური ინფექციების გამომწვევ მიკროორგანიზმებს შორის ყველაზე ფართოდ არის გავრცელებული *Salmonella*.

უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებით გაიზარდა პათოგენური შტამების სამკურნალო პრეპარატების მიმართ მდგრადობა, რაც უზრუნველყოფს მიკროორგანიზმის სელექციურ უპირატესობას. ბოლო წლების განმავლობაში მთელ მსოფლიოში შეიმჩნევა ანტიბიოტიკების და ქიმიოპრეპარატების მიმართ მდგრადობის მნიშვნელოვანი ზრდა. ანტიმიკრობული რეზისტენტობის წარმოქმნა წარმოადგენს ბუნებრივ ბიოლოგიურ პასუხს ანტიმიკრობული პრეპარატების გამოყენებაზე, რომლებიც ქმნიან სელექციურ ზეწოლას, ხელს უწყობს გადარჩევას, გამძლე შტამების გადარჩენას და მიკროორგანიზმების რეზისტენტული შტამების გამრავლებას. რეზისტენტული შტამები იწვევენ ინფექციებს, რომლებიც განსხვავდებიან ხანგრძლივი მიმდინარეობით. ასეთ შემთხვევაში ავადმყოფები უფრო ხშირად საჭიროებენ ჰოსპიტალიზაციას და ხანგრძლივდება სტაციონარებში ყოფნის პერიოდი. აგრეთვე არაეფექტურს ხდიან სამკურნალო პრეპარატებს და ამაღლებენ რეზისტენტული შტამების გავრცელების რისკს.

გამომდინარე აქედან, ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების შექმნა წარმოადგენს განსაკუთრებულ პრიორიტეტს თანამედროვე მედიცინასა და ბიოტექნოლოგიაში. ერთ-ერთ ასეთ საშუალებას წარმოადგენს ბაქტერიოფაგი. ფაგების გამოყენებამ პათოგენური მიკროორგანიზმების წინააღმდეგ საკვებ პროდუქტებსა და წყალში, მედიცინასა და ვეტერინარიაში გამოავლინა მაღალი ეფექტურობა, სპეციფიკურობა და მაღალი რენტაბელობა.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა საკვები პროდუქტებიდან გამოყოფილი სალმონელას შტამები. ჩვენს მიერ კვლევის პერიოდში სულ გამოყოფილი იქნა *Salmonella typhimurium*-ის 31 შტამი. საკვები პროდუქტების მიხედვით გამოყოფილი სალმონელას შტამები ასე გადანაწილდა: 14 - საქონლის ხორცი, 8 - ღორის ხორცი, 5 - ქათმის ხორცი, 4 - კვერცხი.

აღნიშნული კვლევების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან საკითხს წარმოადგენდა გამოყოფილი სალმონელას შტამების ბიოქიმიური თვისებების შესწავლა.

ბიოქიმიური კვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ყველა გამოკვლეული შტამი იყო ნეგატიური ოქსიდაზას, ინდოლის, ურეაზას მიმართ და დადებითი მეთილენის წითელის, Simmons Citrate, გოგირდწყალბადის წარმოქმნის და ნიტრატების შემცირების მიმართ. გარდა ამისა, ყველა შტამი, ორის გარდა #3 და #5 იყო დადებითი კატალაზას ტესტის მიმართ. აღნიშნულმა ექსპერიმენტებმა გვიჩვენა, რომ ყველა შერჩეული *S. typhimurium*-ის შტამი იყო აქტიური და ქონდათ ძირითადი ბიოქიმიური თვისებები.

მიღებული შედეგების ანალიზის შედეგად დადგინდა, რომ გამოყოფილი სალმონელების შტამები ხასიათდებიან ამ გვარის მიკროორგანიზმებისათვის დამახასიათებელი ყველა ბიოქიმიური მახასიათებლით, რაც განაპირობებს მათ მიკუთვნებას სალმონელათა ბიოქიმიურ ნიშასთან. შემდგომ ექსპერიმენტში ასევე გამოვიყენეთ ინსტიტუტის კოლექციაში აქრებული *S. typhimurium*-ის 15 შტამი.

როგორც უკვე აღვნიშნეთ საკვებისმიერი დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლას დიდი მნიშვნელობა აქვს. გამოყოფილი შტამების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძობელობის განსაზღვრა მნიშვნელოვანია მულტირეზისტენტული მიკრობების გავრცელების მზარდი საფრთხის გამო, რაც საფრთხეს უქმნის ადამიანის ჯანმრთელობას.

ანტიბიოტიკები, რომლებიც მასიურად გამოიყენება სხვადასხვა ინფექციური დაავადებების სამკურნალოდ, ამ დაავადებათა შემთხვევაში იძლევა მხოლოდ დროებით ეფექტს და შემდგომში რეინფექციის მიზეზად გვევლინება.

ამრიგად, ბუნებაში არსებობს რეალური შესაძლებლობა იმისა, რომ ბაქტერიებმა შეიძინონ რეზისტენტობა ანტიბიოტიკების მიმართ და საკმაოდ მოკლე ხანში შეეგუონ ახალ ანტიმიკრობულ მედიკამენტებს. ანტიბიოტიკების საწინააღმდეგოდ ბაქტერიებმა გამოიმუშავეს უნიკალური ბიოლოგიური რეაქციები, რომლებიც სერიოზულ წინააღმდეგობას უწევენ ბაქტერიების მოსასპობად გამიზნულ ქიმიურ პრეპარატებს. ყოველ ახალ ანტიბიოტიკზე ბაქტერიები იძლევიან ადექვატურ პასუხს, კერძოდ, ჩნდება ამ ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტული შტამები, რომლებიც პრეპარატის ბიოლოგიურ აქტივობას ფაქტობრივად უშედეგოს ხდის.

ჩვენს მიერ შესწავლილი იქნა *Salmonella typhimurium*-ის შტამების ანტიბიოტიკორეზისტენტობა შემდეგი ანტიბიოტიკების მიმართ: ამპიცილინი, ქლორამფენიკოლი, ციპროფლოქსაცინი, გენტამიცინი, ტეტრაციკლინი, ტრიმეთოპრიმი და კანამიცინი.

ჩატარებულმა კვლევამ გამოავლინა, რომ შესწავლილი სალმონელოზური კულტურების უმრავლესობა ხასიათდება ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მაღალი ხარისხით. გამოვლინდა მრავლობითი რეზისტენტობა, როდესაც შტამები რეზისტენტული იყო ოთხი და მეტი ანტიბიოტიკის მიმართ.

სალმონელების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლისას დადგინდა, რომ *S. typhimurium*-ის 46 შტამიდან 27 (58%) იყო რეზისტენტული ამპიცილინის მიმართ, 26 (56%) - ქლორამფენიკოლის, 24 (52%) - გენტამიცინის, 26 (56%) - ციპროფლოქსაცინის, 37 (80%) - ტეტრაციკლინის, 23 (50%) - ტრიმეთოპრიმის, 35 (76%) - კანამიცინის მიმართ. ყველა შტამმა აჩვენა პოლირეზისტენტობა ცდაში გამოყენებული ანტიბიოტიკების მიმართ. ერთმა შტამმა *S. typhimurium* #69 გამოავლინა რეზისტენტობა ყველა ანტიბიოტიკის მიმართ. 6 შტამმა - ##12, 14, 20, 31, 85 და 87 გამოავლინა გარდამავალი მგრძობელობა 1 ან 2 ანტიბიოტიკის მიმართ, ხოლო დანარჩენი ანტიბიოტიკების მიმართ იყვნენ რეზისტენტული.

ინფექციური დაავადებების ეპიდემიოლოგიური შესწავლის დროს დიდი მნიშვნელობა აქვს გამომწვევი მიკროორგანიზმების სუბტიპების დადგენას. ამ მიზნით გამოიყენება მიკროორგანიზმების სუბტიპირების გენოტიპური და ფენოტიპური მეთოდების ფართო დიაპაზონი. განსაკუთრებით წარმატებით გამოიყენება მაკრორესტრიქციული ანალიზი პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით.

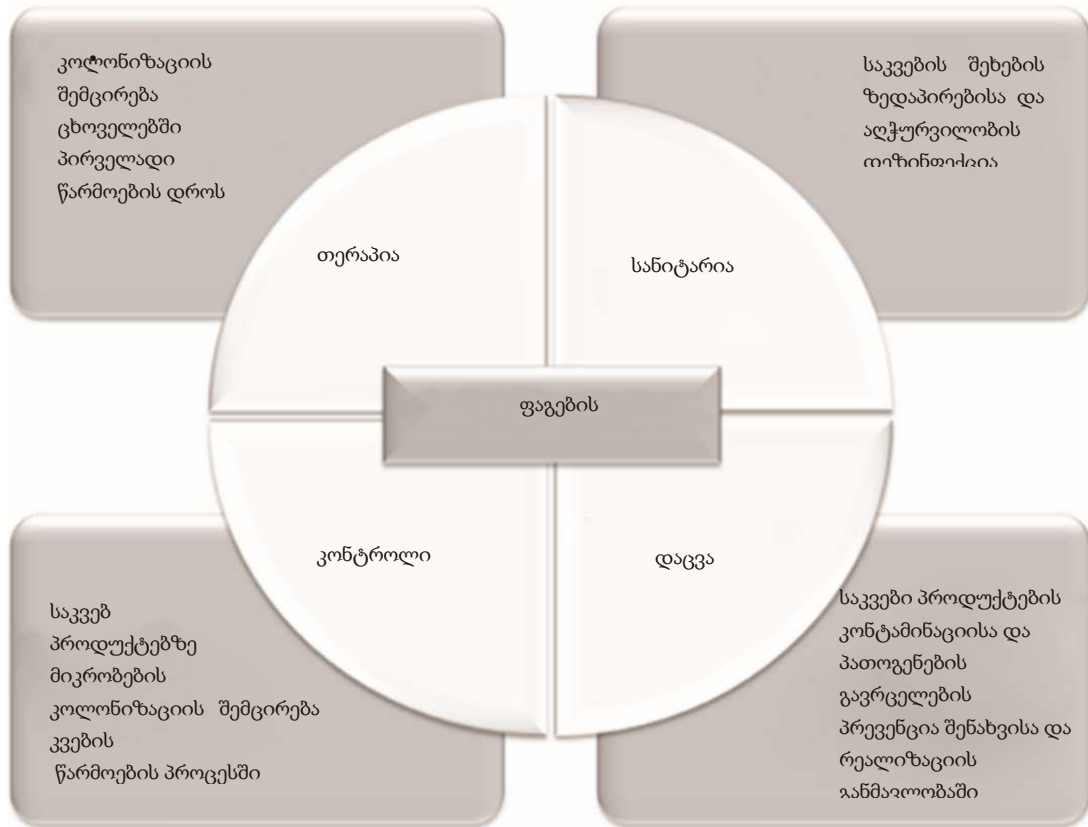
ახლად გამოყოფილი სალმონელური შტამების სუბტიპირების მიზნით, ჩვენ მიერ განხორციელდა სხვადასხვა წყაროდან გამოყოფილი შტამების სუბტიპირება პულსირებად ველში ელექტროფორეზის მეთოდის გამოყენებით მათი რესტრიქციული ფერმენტით XbaI წინასწარ დამუშავების შემდეგ.

შესწავლის შედეგად დადგინდა, რომ შტამები #111 და #117 აჩვენებენ მსგავს PFGE პროფილებს. დანარჩენი შტამების პროფილები განსხვავებულია, რაც მიუთითებს, რომ ისინი მიეკუთვნებიან სხვადასხვა სუბტიპს. შტამ *S. typhimurium* #118-ის ტიპირება წარმოდგენილი მეთოდით ვერ მოხერხდა. ეს შედეგები მიუთითებს იმას, რომ საკვებ პროდუქტებში ცირკულირებს სალმონელას განსხვავებული სუბტიპები, რაც აიხსნება ერთიანი ქსელის არ არსებობის გამო.

კოლექციაში არსებული *S. typhimurium*-ის შტამების შესწავლამ ცხადყო სალმონელოზური შტამები #01, #02, #03, #04 ხასიათდებოდნენ იდენტური PFGE პროფილით, შტამები #05, #06 განსხვავებული პროფილებით, ასევე განსხვავებული იყო შტამ #07-ის პროფილი. ხოლო შტამ #08-ის ტიპირება მოცემული ფერმენტით ვერ მოხერხდა. კლინიკური შტამების მსგავსი პროფილები შეიძლება აიხსნას იმით, რომ ყველა პათოგენური შტამი არ არის მძიმე შედეგების გამომწვევი და დაავადების განკურნება უმრავლეს შემთხვევებში მკურნალობის გარეშე ხორციელდება და სამკურნალო დაწესებულებებში მიმართვიანობა ხდება მხოლოდ დაავადების მძიმე ფორმით არსებობის შემთხვევებში, რაც გამოწვეულია მსგავსი გენეტიკური ტიპის მქონე სალმონელას შტამებით.

გამომდინარე იქედან, რომ ანტიბიოტიკების მიმართ განუხრელად იზრდება რეზისტენტული ბაქტერიების რიცხვი, ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების შექმნა წარმოადგენს განსაკუთრებულ პრიორიტეტს თანამედროვე მედიცინასა და ბიოტექნოლოგიაში. ერთ-ერთ ასეთ საშუალებას წარმოადგენს ბაქტერიოფაგი. ფაგების გამოყენებამ პათოგენური მიკროორგანიზმების წინააღმდეგ საკვებ პროდუქტებსა და წყალში, მედიცინასა და ვეტერინარიაში გამოავლინა მაღალი ეფექტურობა, სპეციფიკურობა და მაღალი რენტაბელობა.

ბაქტერიოფაგები ფართოდ გამოიყენება როგორც კვების უსაფრთხოებაში, ასევე ბაქტერიული დაავადებების წინააღმდეგ ბრძოლაში [Deresinski S, 2009; Sillankorva S, et al. 2012]. სხვადასხვა კვლევებმა აჩვენა, რომ ფაგების გამოყენებას კვების უსაფრთხოებაში დამაიმედებელი შედეგები აქვს. ფაგების გამოყენება საშუალებას გვაძლევს თავიდან იქნას აცილებული პათოგენური მიკროორგანიზმებით საკვები პროდუქტების კონტამინაცია. საკვები პროდუქტების, წარმოებების, საავადმყოფოების და სხვა ზედაპირების ფაგებით დამუშავებით შემცირდება ინფექციური დაავადებების გამომწვევი მიკროორგანიზმების გავრცელება, რაც ასევე შეამცირებს ადამიანების დაავადებების რისკს.



სურ 31. ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობა საკვების წარმოების ჯაჭვში

ბაქტერიოფაგების უპირატესობა ანტიბიოტიკებთან და სულფანილამიდურ პრეპარატებთან მიმართებაში გამოიხატება იმაში, რომ ბაქტერიოფაგების გამოყენება არ იწვევს რეზისტენტული რასების წარმოშობას, ორგანიზმის ინტოქსიკაციას და ქიმიური ნივთიერების აკუმულაციას ორგანიზმში. უპირატესობა გამოიხატება აგრეთვე მათი მოქმედების სპეციფიურობაში. ფაგები მოქმედებენ მხოლოდ კონკრეტულ პათოგენზე (განსხვავებით ანტიბიოტიკებისაგან) და არ თრგუნავენ ორგანიზმის ნორმალური მიკროფლორის ცხოველყოფილობას [Olsen S, 1999].

სხვადასხვა კვლევების მიხედვით გამოვლენილია ბაქტერიოფაგების ეფექტურობა პათოგენური მიკროორგანიზმებით გამოწვეული ინფექციური დაავადებების სამკურნალოდ. განსაკუთრებით ფართოა ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესაძლებლობები საკვების უსაფრთხოების მიზნით საკვების წარმოების სხვადასხვა საფეხურზე (სურ. 31). არსებობს მონაცემები ფაგური პრეპარატების გამოყენებისა მზა საკვები პროდუქტების პათოგენური მიკროორგანიზმებით კონტამინაციისა და მიკრობების გავრცელების პრევენციისათვის საკვების შენახვისა და რეალიზაციის პროცესში. ამერიკის შეერთებულ შტატებში უკვე იწარმოება ბაქტერიოფაგზე დაფუძნებული პრეპარატები საკვებისმიერი პათოგენების საწინააღმდეგოდ. “Intralytics” არის პირველი კომპანია აშშ-ში, რომელმაც მიიღო საკვების წარმოებაში შემდეგი ფაგური პრეპარატების გამოყენების უფლება: (ListShield™ - *Listeria monocytogenes* საწინააღმდეგოდ, EcoShield™- *Escherichia coli* O157:H7 საწინააღმდეგოდ, SalmoFresh™- სალმონელის საწინააღმდეგოდ). 2017 წელს მიიღო ShigaShield™ - შიგელას

საწინააღმდეგო პრეპარატების გამოყენების უფლება. [http://www.intralytix.com/index.php?page=food]. ამასთან უნდა აღინიშნოს, რომ ძირითადად აღნიშნული პრეპარატები გამოიყენება მზა საკვებ პროდუქტებში პათოგენების შემცირებისა და ელიმინაციის მიზნით, მაგრამ არ არსებობს მონაცემები ბაქტერიოფაგების გამოყენების შესახებ კვების წარმოების პროცესში საკვებ პროდუქტებზე და საწარმოო დანადგარებზე პათოგენური მიკროორგანიზმების კოლონიზაციის საწინააღმდეგოდ. ჩვენი კვლევის შედეგად მიღებული ფაგების გამოყენება შესაძლებელია როგორც არსებული და აპრობირებული მეთოდებით, ასევე ახალი მიმართულებით, რაც გულისხმობს ფაგების გამოყენებას საკვების წარმოების ქსელში პათოგენების როგორც ზედაპირული, ასევე მოცულობითი დეკონტამინაციისათვის.

ორი ახლად გამოყოფილი vB_Stm 113, vB_Stm 118 და ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული ერთი ფაგისგან vB_Stm 21, რომლებიც წინასწარი კვლევებით ხასიათდებოდნენ სალმონელას გვარის მიკროორგანიზმების მიმართ ფართო სპეციფიკურობით, შევქმენით ფაგური კოქტეილი თანაბარი რაოდენობით ფაგების შერევით და შევისწავლეთ მისი ეფექტურობა სხვადასხვა მიკროორგანიზმებზე. აღნიშნულმა კოქტეილმა გამოავლინა ფართო სპეციფიკურობა სალმონელების მიმართ და მოახდინა 46-დან 45 (98%) მიკრობის ლიზისი.

შერჩეული სალმონელას ფაგები vB_Stm 113, vB_Stm 118, და vB_Stm 21 შევამოწმეთ სალმონელას სხვა სეროტიპების 13 შტამზე.

მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ შემოწმებული სამი ფაგიდან, ინსტიტუტის კოლექციიდან აღებული ფაგი vB_Stm 21 და ახლად გამოყოფილი ფაგი vB_Stm 118 ხასიათდებოდნენ მეტი აქტიურობით ცდაში გამოყენებული სალმონელას შტამების მიმართ ახლად გამოყოფილ vB_Stm 113 ფაგთან შედარებით. vB-Stm 21 ფაგმა გამოავლინა მაღალი ლითიური აქტივობა სალმონელას 7-დან 5 სეროტიპის მიმართ. სულ აქტიური იყო 13-დან 7 სალმონელას შტამის მიმართ. vB_Stm 118 ფაგი ავლენდა ლითიურ აქტივობას 7-დან 6 სეროტიპის მიმართ და მაღალი ლითიურობით გამოირჩეოდა 13-დან 8 სალმონელას შტამის მიმართ. თუმცა ამ ფაგების მასპინძელი უჯრედების სპეციფიკურობა იდენტური არ იყო. vB_Stm 113 ფაგი ავლენდა ყველაზე სუსტ აქტივობას სალმონელას სეროტიპების მიმართ სხვა შერჩეულ ფაგებთან შედარებით. მაღალი ეფექტურობა გამოავლინა 7-დან 2 სალმონელას სეროტიპის მიმართ და მოახდინა მხოლოდ 3 შტამის სრული ლიზისი 13 შტამიდან. თუმცა vB_Stm 113 ფაგმა აჩვენა მაღალი ლითიური აქტივობა *S. paratyphi A&B* მიმართ, მაშინ როცა არც vB_Stm 21 ფაგმა და არც vB_Stm 118 არ გამოავლინეს ლითიური აქტივობა ამ შტამების მიმართ. უნდა აღინიშნოს, რომ ცდაში მონაწილე ბაქტერიოფაგები ავლენდნენ გარკვეულ აქტივობას თითქმის ყველა წარმოდგენილი შტამის მიმართ.

აგრეთვე შევამოწმეთ ფაგური კოქტეილის ლითიური აქტივობა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტის ნორმალური ფლორის მიმართ. მიღებული შედეგებიდან ჩანს, რომ არანაირი ლითიური აქტივობა არ დაფიქსირდა კუჭ-ნაწლავის ტრაქტისთვის დამახასიათებელი ნორმალური ბაქტერიების მიმართ. შერჩეული ფაგების დაბალი ლითიური აქტივობა წარმოდგენილი მიკროორგანიზმების მიმართ მიუთითებს იმაზე, რომ ფაგების, როგორც ანტიმიკრობული საშუალებების გამოყენება, არ არის ზიანის მომტანი ადამიანისა და ცხოველის ჯანმრთელობისათვის.

ფაგის, კოქტეილის სახით, გამოყენების უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ იგი ზრდის ცალკეული ფაგების მოქმედების სპექტრს, სპეციფიკურად მოქმედებს მხოლოდ სამიზნე ბაქტერიებზე და ანტიბიოტიკებისაგან განსხვავებით, არ აზიანებს ორგანიზმის ნორმალურ მიკროფლორას. მისი გამოყენება შესაძლებელია როგორც პროფილაქტიკური, ასევე სამკურნალო მიზნით.

ჩვენ მიერ შესწავლილი იქნა აეროზოლის სახით ბაქტერიოფაგების გამოყენება სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციაში. მოცულობითი დეკონტამინაციისთვის გამოვიყენეთ წვრილდისპერსიული აეროზოლის (მშრალი ნისლის) გენერაციის ტექნოლოგია, რომლის შემადგენლობაშიც შედის ხსნარი. ჩვენ შემთხვევაში მიკროაეროზოლის შესაქმნელად გამოვიყენეთ ეგრეთ წოდებული კომპრესორული ნებულაიზერი (Happyneb II, GIMA S.p.A., Italy). მისი მეშვეობით ჰაერის მძლავრი ნაკადი მაღალი წნევით მიეწოდება სითხის რეზერვუარს, რაც იწვევს სითხის დაშლას ძალიან მცირე ზომის ნაწილაკებად (დიამეტრი ~2µm). ასეთი ფორმით შედის ხსნარი საკვლევ კამერაში და ნისლის ფორმით ნაწილდება მთელ მოცულობაში. ნაწილაკების მცირე ზომა ასევე განაპირობებს მიკრობთან შეხების ზედაპირის ზრდას, რაც თავის მხრივ ასევე ზრდის პრეპარატის ეფექტურობას. ექსპერიმენტისათვის გამოვიყენეთ *Salmonella*-ს საწინააღმდეგო ფაგი vB_Stm 118 ~10⁹ PFU/ml.

ჩვენ მიერ ჩატარებულმა ცდებმა ნათლად წარმოაჩინა ბაქტერიოფაგების შემცველი აეროზოლის გამოყენების ეფექტურობა *Salmonella*-ს უჯრედებით მაღალი ხარისხით დასნებოვნებული სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციისათვის. 4 მლ vB_Stm 118 ფაგის მიკროაეროზოლის გამოყენება 5,5 ლიტრი მოცულობის სივრცეში იწვევდა დასნებოვნებული მინის კუბონების სრულ დეკონტამინაციას და ხელს უშლიდა *S. typhimurium 118*-ის უჯრედების ზრდას მყარი საკვები არის შემცველ ფინჯნებზე. როგორც სავარაუდო იყო, ფაგის არ შემცველი მიკროაეროზოლის გამოყენებას არ ჰქონდა არც დადებითი და არც უარყოფითი ეფექტი როგორც მინის ზედაპირზე, ასევე საკვებ არეში ჩათესილი უჯრედების ცხოველმყოფელობაზე.

ჩვენ შევისწავლეთ მყარ ზედაპირზე და გამდიდრებულ ორგანულ არეში ჩათესილი *S. typhimurium 118*-ის უჯრედების მოცულობითი დეზინფექცია *Salmonella*-ს შემცველი მიკროაეროზოლის გამოყენებით. ასეთი აეროზოლის გამოყენების წარმატებული შედეგები სავარაუდოდ გაზრდის ფაგების, როგორც გარემოს უსაფრთხო დეზინფექტანტების გამოყენების შესაძლებლობას. ფაგების გამოყენება მოცულობითი დეზინფექციისათვის იმედის მომცემია მრავალი თვალსაზრისით. განსაკუთრებით ეფექტური შეიძლება იყოს ფაგური მიკროაეროზოლების გამოყენება ისეთი პათოგენების წინააღმდეგ, როგორებიცაა *M. tuberculosis*, *Legionella* და სხვა. ასევე შეიძლება გამოყენებული იქნას ჰაერწვეთოვანი გზით გავრცელებადი პათოგენების საწინააღმდეგოდ. მოცულობითი დეკონტამინაცია საშუალებას გვძლევს ერთდროულად მოხდეს რთულად ხელმისაწვდომ ადგილებში არსებული მიკროორგანიზმების დეკონტამინაცია, რაც აბსოლუტურად შეუძლებელია დღეს არსებული საყოველთაოდ მიღებული და აპრობირებული მეთოდების გამოყენებით, რომლითაც შესაძლებელია მხოლოდ მიკრობული დეკონტამინაციის დონის შემცირება და არა სრული ელიმინაცია.

კვების წარმოებაში საწარმოო დანადგარებსა და საკვები პროდუქტების შეხების ზედაპირებზე მიკროორგანიზმები წარმოქმნიან ბიოფილმებს, რასაც განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება, რადგანაც ისინი აკუმულირდებიან საკვებ პროდუქტებზე,

ჭურჭელზე და საკვები პროდუქტების შეხების ზედაპირებზე, რაც შესაძლებელია გახდეს საკვები პროდუქტების კონტამინაციის წყარო და გამოიწვიოს საკვებისმიერი დაავადებების გავრცელება.

დადგენილია, რომ 80%-ზე მეტ შემთხვევებში ორგანიზმში მიმდინარე ინფექციური დაავადებები მიმდინარეობს ბიოფილმებით გამოწვეული ინფექციების ფორმით. გარდა ამისა, ბევრი ქრონიკული ინფექციები, რომლებიც გამოწვეულია სამედიცინო იარაღების გამოყენებით (ლინზები, კათეტერები, პროთეზები, გულის ხელოვნური სარქველები), ბაქტერიებს შესწევთ უნარი მათ ზედაპირზე წარმოქმნან ბიოფილმები.

ჩვენ შევისწავლეთ სალმონელების მიერ ბიოფილმების წარმოქმნის უნარი და ბაქტერიოფაგების გავლენა როგორც ბიოფილმის ფორმირების პროცესზე, ასევე უკვე ფორმირებულ ბიოფილმზე. ჩვენ მიერ შესწავლილი სალმონელას შტამები არ ხასიათდებოდნენ ბიოფილმების წარმოქმნის ძლიერი უნარით, 46 შტამიდან 4 შტამს (8,7%) ახასიათებდა ბიოფილმების წარმოქმნის საშუალო უნარი, 17 შტამს (37%) - სუსტი უნარი, ხოლო 25 შტამი (54,3%) საერთოდ არ წარმოქმნიდა ბიოფილმს. ჩვენ მიერ შესწავლილი სალმონელების მიერ ბიოფილმების წარმოქმნის ასეთი სუსტი უნარი შეიძლება იმით აიხსნას, რომ ჩვენ ვახდენდით მიკრობების გამოყოფას მხოლოდ საკვები პროდუქტებიდან და არა გარემო და საწარმოო არეებიდან, სადაც უფრო ხშირია ბიოფილმების წარმოქმნა.

რადგანაც ჩვენ მიერ გამოყოფილი შტამები ხასიათდებოდნენ ბიოფილმის წარმოქმნის სუსტი უნარით და ფაგების ეფექტურობის მიუხედავად, შეუძლებელი იყო სტატისტიკურად სარწმუნო შედეგების მიღება, ბიოფილმებზე ფაგის მოქმედების ეფექტურობის შესასწავლად მოდელოზ ნიმუშად გამოყენებული იქნა ლაბორატორიის კოლექციაში არსებული *P. aeruginosa*-ს შტამები და ფაგები. წინასწარი შესწავლის დროს მათ გამოავლინეს ბიოფილმების წარმოქმნის ძლიერი უნარი და სწორედ *P. aeruginosa* ითვლება ეტალონურ მიკროორგანიზმად ბიოფილმების წარმოქმნის და კონტროლის შესწავლისთვის.

შევისწავლეთ ბაქტერიოფაგების მოქმედება *P. aeruginosa*-ს შტამების ბიოფილმების წარმოქმნის სხვადასხვა სტადიაზე.

შევარჩიეთ ორი ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგი vB-Pa 4 და vB-Pa 5, რომლებიც ხასიათდებოდნენ ლიტიური აქტივობის ფართო სპექტრით, მიეკუთვნებოდნენ სხვადასხვა მორფოლოგიურ ჯგუფებს და განსხვავდებოდნენ მოლეკულურ-ბიოლოგიური თვისებებით.

ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების მოქმედების ექსპერიმენტული შესწავლის დროს გამოვიყენეთ კლინიკური იზოლატები - ადამიანის ორგანიზმიდან გამოყოფილი *P. aeruginosa*-ს 6 შტამი (№№ 80, 104, 211, 255, 380, 401), რომლებიც წინასწარი კვლევით, ხასიათდებოდნენ მგრძობელობით საკვლევი ბაქტერიოფაგების მიმართ და ბიოფილმების წარმოქმნის უნარით. შევისწავლეთ ფაგების მოქმედება როგორც ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე, ასევე უკვე ფორმირებულ ბიოფილმებზე. ბიოფილმების ბიომასის მატების ხარისხი ხასიათდებოდა ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებლის მიხედვით (540 ნმ) კრისტალ-ვიოლეტით შეღებვის შემდეგ და საღებავის ეთანოლთან ადსორბციით. vB-Pa 5 ფაგს ვამატებდით ტესტ შტამების 24-საათიანი კულტივირების შემდეგ იმისათვის, რომ შეგვესწავლა ფაგის მოქმედება უკვე ფორმირებულ ბიოფილმზე. იმისათვის, რომ

შეგვესწავლა ბაქტერიოფაგების მიერ ბიოფილმების წარმოქმნის თავიდან აცილების უნარი, vB-Pa 5 ფაგს ვამატებდით პლანშეტის უჯრედებში ფსევდომონადური შტამების კულტივირებამდე 4 სთ-ით ადრე და დასაწყისში. 48-საათიანი კულტივირების შედეგად, შტამები ხასიათდებოდნენ განსხვავებული, მაგრამ ბიოფილმების წარმოქმნის მაღალი უნარით. ფაგის წინასწარ დამატება პლანშეტის უჯრედებში (მიკროორგანიზმების სუსპენზიის შეტანამდე) თრგუნავდა ბიოფილმის ფორმირებას და ზოგიერთ შემთხვევაში პრაქტიკულად სრულად უშლიდა ხელს მათ ზრდას. ფაგის დამატება უკვე ფორმირებულ ბიოფილმებზე იწვევდა მათ ნაწილობრივ ან სრულ დესტრუქციას.

აგრეთვე შევისწავლეთ vB-Pa 4 ფაგის მოქმედება ბიოფილმებზე, ფორმირებული *P. aeruginosa*-ს ჰოსპიტალური პოლირეზისტენტული შტამების (№№ 80, 225, 380) მიერ. შედეგის ინტენსივობა როგორც საკვლევ, ასევე საკონტროლო უჯრედებში შტამებისათვის *P. aeruginosa* №№ 380 და 225 პრაქტიკულად არ განსხვავდებოდა, რაც ადასტურებს ფსევდომონადური ბაქტერიოფაგის vB-Pa 4-ის მოქმედების ეფექტურობას ბიოფილმების ფორმირების პროცესზე. *P. aeruginosa* № 80-ის შემთხვევაში უჯრედებში ფაგის დამატების შემდეგ ოპტიკური სიმკვრივის მაჩვენებელი იყო საკონტროლო უჯრედების მაჩვენებელზე დაბალი, რაც ადასტურებს აღნიშნული შტამის მდგრადობას vB-Pa 4 ფაგის მიმართ.

მიღებული შედეგები მიუთითებენ ფაგების გამოყენების პერსპექტივაზე როგორც ნოსოკომიალური, ასევე საკვებისმიერი პათოგენების ბიოკონტროლისათვის.

პათოგენური მიკროორგანიზმების კონტროლი ხელს შეუწყობს მათი სიხშირის შემცირებას გარემო არეში და კვების პროდუქტებში, რაც თავის მხრივ, შეამცირებს ადამიანებში აღნიშნული პათოგენით გამოწვეული დაავადებების გავრცელების რისკს.

თავი V

დასკვნები

1. საკვები პროდუქტების (ღორის, საქონლის და ქათმის ხორცი, ქათმის კვერცხი) 200 ნიმუშიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმების შესწავლის შედეგად დადგინდა საკვები პროდუქტების *S. typhimurium*-ით კონტამინაციის მაღალი დონე (31 შტამი).
2. დადგენილი იქნა შესწავლილი სალმონელას კულტურების ანტიბიოტიკების მიმართ მაღალი მდგრადობა.
3. შტამების მოლეკულური ტიპირების შედეგად, პულსირებად ველში გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით, დადგინდა განსხვავებული PFGE პროფილები.
4. ჩვენს მიერ ლაბორატორიის კოლექციიდან (1 ფაგი) და ახლად გამოყოფილი ფაგებიდან (2 ფაგი) 3 სალმონელოზური ბაქტერიოფაგის საფუძველზე შეიქმნა ფაგური კოქტეილი და დადგინდა მისი მაღალეფექტურობა მასში შემავალ ცალკეულ ფაგებთან შედარებით, რაც, თავის მხრივ, ამცირებს პათოგენების რეზისტენტობის განვითარების შესაძლებლობას.
5. ჩვენ მიერ ჩატარებულმა მოდელოურმა ცდებმა გამოავლინა vB_Stm 118 ბაქტერიოფაგის შემცველი მიკროაეროზოლის გამოყენების ეფექტურობა სალმონელას უჯრედებით დასნეზოვნებული სხვადასხვა ზედაპირების დეკონტამინაციისათვის.
6. კვლევის შედეგად დადასტურდა ფაგების vB-Pa 4 და vB-Pa 5-ის ეფექტურობა სხვადასხვა სიძლიერის ბიოფილმების ელიმინაციისა და პრევენციისათვის.

გამოყენებული ლიტერატურა

- დკსჯეც, ეპიდემიოლოგიური ბიულეტენი. ნაწლავთა ინფექციები. ტ. 19, №8. 2015
- კერესელიძე მ. კლინიკური ბაქტერიოლოგია, თბილისი, 2001
- ლაფერაშვილი ქ., ქუჩუკაშვილი ზ. სურსათის უვნებლობა და ხარისხი. თბილისი, გვ. 79-84, 2011
- ნათიძე მ., ჭანიშვილი თ., გომართელი გ. ბაქტერიოფაგი, თბილისი, 1989
- Адамс М. Бактериофаги. М.: Иностранная литература. с. 392-459, 1961
- Гольдфарб Д.М. Бактериофагия. Москва, Медгиз, с. 297, 1961
- Кереселидзе М., Габисония Т., Мелашвили Г., Дидебулидзе К. Птицеводство. № 11. с. 42-43, 2005
- Конопаткин А.А. Эпизоотия и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных. Москва, 1984
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: “Мир”, с. 241–254, 1984
10. European Commission: Trends and sources of zoonotic agents in animals, feedingstuffs, food and man in the European Union and Norway in 2002. [http://europa.eu.int/comm./food/food/biosafety/salmonella/03_salm_2002.pdf]
- Abedon S.T., Kuhl S.J, Blasdel B.G, Kutter E.M. Bacteriophage. vol. 1. № 2. pp. 66–85, 2011
- Ackermann H.W. Bacteriophage classification. In: bacteriophages: biology and application, E. Kutter and A. Sulakvelidze, eds. (Boca Raton: CRC Press), pp. 67-89, 2005
- Ackermann H.W. Phage classification and characterization. In Bacteriophages. Methods and Protocols, vol. I, Isolation, Characterization, and Interactions (Clokie M.R.J. and Kropinski A.M., eds), Methods in Molecular Biology, 501, 127–140, Humana Press, Clifton, NJ, 2009
- Adams M.J. Bacteriol. 70(3): 253–259, 1955
- AHVLA. Salmonella in livestock production in GB: 2013 report, 2014
- AitMhand R., Soukri A., Moustauoui N., Amarouch H., El Mdaghri N., Sirot D. and Benbachir M. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 49:169-172, 2002
- Albayrak F., Çokça F., Erdem B., Aysev A.D. Int. Journal of Antimicrobial Agents. vol. 23, pp. 332-336, 2004
- Algirdas J., Franklin M., Berglund D., Sasaki M., Lord C., Bleazard J., Duffy J., Beyenal H. and Lewandowski Z. The Journal of Immunology 171(8) pp. 4329-4339, 2003
- de Alwis M.C.L.: Haemorrhagic septicaemia. In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, third edition, Paris 1997, pp. 331-337, 1996
- Anonymous. UK-wide Survey of Salmonella and Campylobacter Contamination of Fresh and Frozen Chicken on Retail Sale. Food Standards Agency, 2003
- Arboite de Oliveira F., Brandelli A., Tondo E.C. The New Microbiologica, vol. 29, pp. 49-54, 2006
- Arguello H., Alvarez-Ordóñez A., Carvajal A., Rubio P. and Prieto M. Journal of Food Protection. 76:899–911, 2013a
- Azeredo J., Pires D., Sillankorva S., Faustino A. Research in Microbiology. vol. 162. № 8. pp. 798-806, 2011
- Azeredo J., Sutherland I.W. Current Pharmaceutical Biotechnology. vol. 9. № 4. pp. 261-266, 2008

Bailey J.S., Stern N.J., Fedorka-Cray P., Craven S.E., Cox N.A., Cosby D.E., Ladely S., Musgrove M.T. *Journal of Food Protection*, 64, pp. 1690–7, 2001

Bhardwaj N., Bhardwaj S.K., Deep A., Dahiya S. and Kapoor S. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 10(11): 708-723, 2015

Bhunia A.K. *Foodborne microbial pathogens: Mechanisms and pathogenesis*. United States of America: Springer Science + Business Media, LLC, 2008

Biswas B., Adhya S., Washart P., Paul B., Trostel A., Powell B., Carlton R., Merrill C. *Infection and Immunity*. 70(1): 204-10, 2002

Boyd D.A., Cloeckert A., Chaslus-Dancla E. and Mulvey M.R. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. vol. 46(6): 1714-1722, 2002

Branda S., Vik Å., Friedman L., Kolter R. *Trends in Microbiology*, vol. 13, No. 1, pp. 20-26, 2005

Breidenstein E.B., de la Fuente-Núñez C., Hancock R.E. *Trends in Microbiology*. vol. 19, pp. 419-426, 2011

Brooks J.D. & Flint S.H. *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 43, pp. 2163-2176, 2008

Burnet F.J. *Path. Bact.* vol. 36, pp. 307-318, 1933

Burrowes B., Harper D., Anderson J., McConville M., Enright M. *Expert Rev. Ant. Infect. Ther.* vol. 9. Nº 9. pp. 775-85, 2011

de Buyser M., Dufour B., Maire M., Lafarge V. *International Journal of Food Microbiology*. 67(1-2): 1-17, 2001

Byrd J., Bailey R., Wills R., Nisbet D. *Science*, vol. 86, pp. 26-29, 2007

Cabanes D., Dehoux P., Dussurget O., Frangeul L., Cossart P. *Trends in Microbiology*, vol. 10, Nº 5, pp. 238–245, 2002

Calendar R. *The Bacteriophages*. p. 768, 2006

Canchaya C., Fournous G., Chibani-Chennoufi S., Dillmann M., Brüßow H. *Current Opinion in Microbiology*. 6(4): 417-24, 2003

Cantor A. and McFarlane V.H. *Science*, vol. 27, pp. 350–5, 1948

Carrasco E., Morales-Rueda A., García-Gimeno R.M. *Food Research International*. Vol. 45, Issue 2, pp. 545–556, 2012

Carson L., Gorman S., Gilmore B. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* vol. 59. Nº 3. pp. 447–455, 2010

CDC. *Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks United States. Annual Report, 2013*

Chatterjee A. *Journal of Bacteriology*. vol. 184, No 15. pp. 4089-4095, 2002

Chebotar I.V. *Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy*. vol. 14, Nº 1, pp. 51-58, 2012

Chia T.W.R., Goulter R.M., McMeekin T., Dykes G.A. and Fegan N. *Food Microbiology*, vol. 26, Nº 8, pp. 853-859, 2009

Chiu C.H., Su L.H., Chu C., Chia J.H., Wu T.L., Lin T.Y., Lee Y.S., Ou J.T. *The Lancet*. 363 (9417): 1285-6, 2004

Corry J.E., Allen V.M., Hudson W.R., Breslin M.F., Davies R.H. *Journal of Applied Microbiology*. vol. 92, Nº 3. pp. 424–32, 2002

Costerton J.W. *Int. Journal of Antimicrobial Agents*, 11: 217–21, 1999

Craig. W.A. *Antimicrobial pharmacodynamics in theory and clinical practice*. New York, Basel: Marcel Decker, Inc., pp. 1-22, 2002

Cruchaga S., Echeita A., Aladueña A., García-Peña J., Frias N., Usera M.A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 47, Nº 3. pp. 315-321, 2001

Cunha B.A. *Semin. Respir. Infect.* vol. 17. Nº 3. pp. 231-239, 2002

D'Aoust J.Y. and Maurer J. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*. 3rd ed. Washington: ASM Press; pp. 187–236, 2007

Darcy Hanes, Nontyphoid Salmonella, *International Handbook of Foodborne Pathogens*. Edited by M. D. MILIOTIS and J.W. BIER, pp. 137-151, 2003

Davey M.E., O'toole G.A. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. vol. 64, Nº4. pp. 847-867, 2000

Deresinski S. *Clinical Infectious Disease*. 48:1096-1101, 2009

Donlan R.M. & Costerton J.W. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 15, No. 2, pp. 167-193, 2002

Drenkard E. *Microbes and Infection*. vol. 5. Nº 13. pp. 1213-1219, 2003

Driscoll J.A., Brody S.L., Kollef M.H. *Drugs*. vol. 67. Nº 3. pp. 351-368, 2007

Drulis-Kawa Z., Weber-Dabrowska B., Lusiak-Szelachowska M., Doroszkiewicz W. *Polish Journal of Microbiology*. 54(1): 63–67, 2005

Duan K. *Molecular Microbiology*. vol. 50. pp. 1477-1491, 2003

Duguid J.P., Anderson E.S., Campbell I. *Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 92, No.1, pp. 107-138, 1966

DuPont H.L. *Clinical Infectious Disease*. 45(10):1353-61, 2007

Efferson K.K. *FEMS Microbiol. Lett.* 236: 163-173, 2004

EFSA. *EFSA J* 11(4):3129, 1–250, 2013

Essler M., Hermann K., Amano M., Kaibuchi K., Heesemann J., Weber P.C., Aepfelbacher M. *Journal of Immunology*. vol. 161, Nº 10. pp. 5640-5646, 1998

European Centre for Disease Prevention and Control. *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014*. European Food Safety Authority. 2015

FAO. *State of Food Insecurity in the World*. 2015

FAO/WHO *Statistical Information on Food-borne Disease in Europe*. Microbiological and Chemical Hazards. Conference paper, Budapest, Hungary, 2012

Fancello L., Desnues C., Raoult D., Rolain J.M. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 66 (11):2448-54, 2011

Fischetti V.A. *Current Opinion in Microbiology*. 11:393–400, 2008

Friedman C.R., Hoekstra R.M., Samuel M., Marcus R., Bender J., Shiferaw B., Reddy S., Ahuja S.D., Helfrick D.L., Hardnett F., Carter M., Anderson B., Tauxe R.V. *Clinical Infectious Disease*. 38 (Suppl) 3:S285-S296, 2004

Friesema I.H. *Euro Surveillance*, 2012. vol 17 Issue 43. 2012

Foley S.L., Lynne A.M. *J. Anim. Sci.* 86(14 Suppl):E173-87, 2008

Fu W., Forster T., Mayer O., Curtin J.J., Lehman S.M., Donlan R.M. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. vol. 54. Nº 1. pp. 397–404, 2010

Gelband H., Miller-Ptrie M., Pant S., Gandra S., Levinson J., Barter D., White A., Laxminarayan R. *The State of the World's Antibiotics*, CDDEP, 2015

Giaouris E., Chorianopoulos N., Nychas G.J. *Journal of Food Protection*, vol. 68, No. 10, pp. 2149-2154, 2005

Giaouris E., Chorianopoulos N., Skandamis P. and Nychas G.J. *Salmonella - A Dangerous Foodborne Pathogen*, Chapter 8. pp. 157-180, 2012

Gilbert P., Allison D.G. & McBain A.J. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 92, pp. 98S-110S, 2002

Gillespie I.A., Adak G.K., O'Brien S.J., Bolton F.J. *Epidemiol. Infect.* 130(3): 461-468, 2003

Golub A.V. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. vol. 14, No.1. pp. 23-29, 2012

Gorman R., Bloomfield S., Adley C.C. *Int. J. Food Microbiol.* 76 (1-2):143-150, 2002

Gray J.T. and Fedorka-Cray P.J. *Foodborne diseases*, pp. 55-68. San Diego: Academic Press, 2002

Grimont P. and Weill F.X. *Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars*. Paris, France: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella, 2007

Guibourdenche M. *Research in Microbiology*. 161(1):26-9, 2010

Gunduz G.T., Tuncel G. *Antonie van Leeuwenhoek*. 89(3-4): 329-336, 2006

Gupta A.J., Fontana J., Crowe C., Bolstorff B., Stout A., Van Duyne S., Hoekstra M.P., Whichard J.M., Barrett T.J., Angulo F.J. *J. Infect. Dis.* 188(11): 1707-1716, 2003

Gupta K., Marques C.N., Petrova O.E., Sauer K. *Journal of Bacteriology*. vol. 195, No 21. pp. 4975-4981, 2013

Guttman B., Raya R., and Kutter E. *Basic Phage Biology*. pp. 29-66, 2005

Hanes D. Nontyphoid Salmonella. In Henegariu, O., Heerema, N. A., Dlouhy, S. R., Vance, G. H and Vogt, P. H. (Eds.). *International handbook of foodborne pathogens*, pp. 137-149. New York: Marcel Dekker, Inc; 2003

Habimana O., Heir E., Langsrud S., Asli A.W., Møretro T. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 76, No. 13, pp. 4557-4559, 2010

Hall-Stooley L., Costerton J.W., Stoodley P. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 95-108, 2004

Hall-Stooley L. and Stooley, P. *Trends in Microbiology*. 13: 7-10, 2005

Hanlon G.W., Denyer S.P., Olliff C.J., Ibrahim L.J. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(6): 2746-2753, 2001

Hanninen M.L., Perko-Mäkelä P., Pitkälä A., Rautelin H. *Journal of Clinical Microbiology*. 38 (5): 1998-2000, 2000.

Harriott M.M. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. vol. 53. pp. 3914-3922, 2009

Harper D.R. Beneficial effects of bacteriophage treatment. U.S. Patent 8475787 B2, 2010

Harper D.R. Biological control by microorganisms. In *The Encyclopedia of Life Sciences*; John Wiley and Sons: Chichester, UK, 2013

Harper D., Parracho H., Walker J., Sharp R., Hughes G., Werthén M., Lehman S., and Morales S. *Antibiotics*. vol. 3. Nº 3. pp. 270-284, 2014

Hauser E., Tietze E., Helmuth R., Junker E., Blank K., Prager R., Rabsch W., Appel B., Fruth A. and Malorny B. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(14): 4601-10, 2010

Hawkins C., Harpera D., Burchb D., Änggård E., Soothill J. *Vet. Microbiol.* vol. 146, issues 3-4, pp. 309-313, 2010

Høiby N. *Int J. Antimicrob. Agents*. vol. 35. Nº 4. pp. 322-32, 2010

van Houdt R., Michiels C.W., *Research in Microbiology*., 156, pp. 626-633, 2005

Howard A.J. Joseph T.D., Bloodworth L.L.O., Frost J.A., Chart M, Rowe B.J. *Antimicrob. Chemother*, 26: 296-298, 1990

Hu L. and Kopecko D.J. International handbook of foodborne pathogens, pp. 151-165. New York: Marcel Dekker, Inc, 2003

Hudson J.A., Billington C., Carey-Smith G. and Greening G. Journal of Food Protection. 68, pp. 426-437, 2005

van Immerseel F. Gut Pathogens. 2:23, 2010

Jaewoo Bai., You-Tae Kim., Sangryeol Ryu and Ju-Hoon Lee. Frontiers in Microbiol. 7: 474, 2016

Jefferson K.K. FEMS Microbiol. Lett., 236, pp. 163–173, 2004

Jorgensen F. Poultry as a reservoir for foodborne disease - News & Features, Microbiologist, vol. 15 No. 1, 2014

Jorgensen H.J., Mørk T., Høgåsen H.R., Rørvik L.M. Journal of Applied Microbiology. 99 (1): 158-166, 2005

Jorgensen H.J., Mørk T., Rørvik L.M. J. Dairy Sci. 88(11): 3810-3817, 2005

Joshua G.W., Guthrie-Irons C., Karlyshev A.V., Wren B.W. Microbiology, Vol. 152(Pt2), pp. 387-396, 2006

Kamlesh A. and Nannapaneni R. Journal of Food Protect. vol. 73. № 8. pp. 1519–1524, 2010

Kariuki S., Revathi G., Kariuki N., Kiiru J., Mwituria J., Muyodi J., Githinji J.W., Kagendo D., Munyalo A., Hart C.A. Journal of Med. Microbiol, 55 (Pt 5): 585–591, 2006

Kim H., Ryu J.H., Beuchat L.R. Appl. Environ. Microbiol. 72(9): 5846–5856, 2006

Kim T.J., Young B.M., Young G.M. Applied and Environmental Microbiology, vol. 74, No. 17, pp. 5466-5574, 2008

Kimura A.C. Reddy V., Marcus R. Clinical Infectious Disease. 38 (Supl) 3:S244-S252, 2004

Kumari S., Harjai K., Chhibber S. Folia Microbiol. 55(3): 221–227, 2010

Kutateladze M., Adamia R. Trends Biotechnol. vol. 28, № 12. pp. 591-5, 2010

Kutter E. and Sulakvelidze A. Bacteriophages: Biology and Applications / CRC Press. pp. 458-459, 2004

Labrie J., Samson J.E., Moineau S. Nat. Rev. Microbiol. 8(5): 317–327, 2010

Lamprell H., Villard L., Chamba J.F., Beuvier E., Borges E., Maurin F., Mazerolles G., Noel Y., Kodjo A. Revue Med. Vet. 155, 2, pp. 92-96, 2004

Langsrud S., Sidhua M., Heirb E., Holck A. International Biodeterioration & Biodegradation. 51: 283-290, 2003

Leiman P.G., Chipman P.R., Kostyuchenko V.A., Mesyanzhinov V.V., Rossmann M.G. Cell, vol. 118, Issue 4, pp. 419–429, 2004

Lewis K. Curr. Top. Microbiol. Immunol. vol. 322. pp. 107-131, 2008

Liao K.S., Lehman S.M., Tweardy D.J., Donlan R.M., Trautner B.W. Journal of Applied Microbiology. vol. 113, Issue 6, pp. 1530–1539, 2012

Liebana E., Garcia-Migura L., Clouting C., Clifton-Hadley F.A., Breslin M., Davies R.H. Journal of Applied Microbiology, vol. 94, No 6, pp. 1024–9, 2003

Lin L., Hong W., Ji X., Han J., Huang L., Wei Y. Journal of Basic Microbiol. 50(5):452–456, 2010

Lindsay D. & von Holy A. British Food Journal, vol. 108, No.1, pp. 27-37, 2006

Lindsay D. and von Holy A. Journal of Hosp. Infect. 64: 313-325, 2006

Marin C., Hernandez A., Lainez M. Poultry Science, vol. 88, No 2, pp. 424-431, 2009

Martínez J.L. Frontiers in Microbiol. 3: 1, 3 pages, 2012

- Mastroeni P. and Duncan M. Public health aspects of Salmonella enteric in food production. pp. 89-108, 2006
- Mattick K., Durham K., Domingue G., Jørgensen F., Sen M., Schaffner D.W., Humphrey T. *Journal of Food Microbiol.* 85(3): 213-226, 2003
- Matsuzaki S., Rashel M., Uchiyama J., Sakurai S., Ujihara T., Kuroda M., Ikeuchi M., Tani T., Fujieda M., Wakiguchi H., Imai S. *Journal of Infection and Chemotherapy.* vol. 11, Issue 5, pp. 211-9, 2005
- Maukonen J., Mättö J., Wirtanen G., Raaska L., Mattila-Sandholm T., Saarela M. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnol.* 30(6): 327-356, 2003
- Mazurek J., Salehi E., Propes D., Holt J., Bannerman T., Nicholson L.M., Bundesen M., Duffy R., Moolenaar R.L. *Journal of Food Prot.* 67(10): 2165-2170, 2004
- McQuiston J.R. *Journal of Bacteriology.* 190(21): 7060-7067, 2008
- Miller S. and Pegues, D. "Salmonella Species, Including Salmonella Typhi," in Mandell, Douglas, and Bennett's PRINCIPLES AND PRACTICE OF INFECTIOUS DISEASES, Sixth Edition, Chap. 220, pp. 2636-650, 2005
- Miron J., Ben-Ghedalia D., Morrison M. *Journal of Dairy Sci.*, 84(6): 1294-1309, 2001
- Myszka K., Czaczyk K., Shmidt M.T., Olejnik A.M. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, pp. 1605-1612, 2007
- Nigmatová K., Styriak I., Javorský P., Pristas P. *Folia Microbiol.* 53(3): 234-236, 2008
- O'Flaherty S., Ross R.P., Coffey A. *FEMS Microbiol. Rev.* 33(4): 801-819, 2009
- Oliveira K., Oliveira T., Teixeira P., Azeredo J., Henriques M., Oliveira R. *Journal of Food Protection*, vol. 69, No 10, pp. 2352-2356, 2006
- Oliver S.P., Jayarao B.M., Almeida R.A. *Foodborne Pathog. Dis.* 2(2): 115-129, 2005
- Olsen S.J. *Infectious Diseases Society of America*, p-34, 1999
- Olsen S.J., Bishop R., Brenner F.W., Roels T.H., Bean N., Tauxe R.V., Slutsker L. *Journal of Infectious Disease.* 183(5): 753-761, 2001
- O'Toole G.A. and Kolter R. *Mol. Microbiol.* vol. 30. Nº 2. pp. 295-304, 1998
- Parkins M.D., Ceri H., Storey D.G. *Mol. Microbiol.* vol. 40. Nº 5, pp. 1215-1226, 2001
- van Pelt W., Mevius D., Stoelhorst H.G., Kovats S., van de Giessen A.W., Wannet W., Duynhoven Y.T. *Euro Surveill.* 9(7): 17-9, 2004
- Rakhuba D.V., Kolomiets E.I., Dey E.S., Novik G.I. *Polish Journal of Microbiology.* Vol. 59. Nº3, pp. 145-155, 2010
- Rodrigues D., Teixeira P., Oliveira R., Azeredo J. *Journal of Food Protection*, vol. 74, No. 1, pp. 32-37, 2011
- Rolain J.M., Fancello L., Desnues C., Raoult D. *Journal of Antimicrob. Chemother.* 66(11): 2444-7, 2011
- Rolinzi Z. *Rev. Infect. Dis.* 9: 28-53, 1999
- Scallan E., Hoekstra R.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Widdowson M.A., Roy S.L., Jones J.L., Griffin P.M. *Emerging Infectious Diseases*; 17(1): 7-15, 2011
- Scallan E., Griffin P.M., Angulo F.J., Tauxe R.V., Hoekstra R.M. *Emerging Infectious Diseases*; 17(1): 16-22, 2011
- Scharff R. *Journal of Food Protection*, vol. 75, No. 1, pp. 123-131, 2012
- Schwarz S. and Chaslus-Dancla E. *Veterinary Research.* 32(3-4): 201-225, 2001
- Scott W.M. *British Medical Journal*, vol. 12, pp. 56-8, 1930

Seth A.K., Geringer M.R., Nguyen K.T., Agnew S.P., Dumanian Z., Galiano R.D., Leung K.P., Mustoe T.A., Hong S.J. *Plast. Reconstr. Surg.* 131(2) pp. 225–234, 2013

Sharp R., Walker J.T., Riley P., Budge C., West K., Hughes G. *Biofilm Communities—Order from Chaos*; McBain A., Allison D., Brading M., Rickard A., Verran, J., Walker J., Eds.; Bioline: Cardiff, UK; pp. 237–245, 2003

Sillankorva S., Neubauer P., Azaredo J. *Use of Bacteriophages to Control Biofilms*; LAP Lambert Academic Publishing: Saarbrücken, Germany, 2011

Sillankorva S.M., Oliveira H., and Azeredo J. *International Journal of Microbiology.* vol 2012, Article ID 863945, 13 pages, 2012

Slader J., Domingue G., Jørgensen F., McAlpine K., Owen R.J., Bolton F.J. and Humphrey T.J. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 68, No 2, pp. 713–19, 2002

Solowey M., Spaulding E.H., Goresline H.E. *Food Research*, vol. 11, pp. 380–90, 1946

Soni K.A. and Nannapaneni R. *Journal of Food Prot.* vol. 73. № 8. pp. 1519–24, 2010

Srey S., Jahid I.Q., Ha S. *Food Control.* vol. 31. № 2. pp. 572–585, 2013

Stepanović S., Ćirković I., Ranin L. and S/vabić-Vlahović M. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 38, No. 5, pp. 428–432, 2004

Stopforth J.D., Lopes M., Shultz J.E., Miksch R.R., Samadpour M. *Journal of Food Prot.* 69:1452–1455, 2006

Su L.H., Chiu C.H., Chu C., Ou J.T. *Clin Infect Dis.* 39(4): 546–551, 2004

Sulakvelidze A., Alavidze Z., Morris J.G. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45:649–659, 2001

Sulakvelidze A. and Pasternack G. *Bacteriophages in the Control of Food-and Waterborne Pathogens*, Sabour, P.M. and M.W. Griffiths (Eds.). ASM Press, Washington, DC., ISBN: 9781555815028, pp: 297–326, 2010

Sunde M. and Nordstrom M.J. *Antimicrob. Chemother.* 58:741–747, 2006

Sutherland I.W. *Journal of Trends in Microbiology.* vol. 9. pp. 222–227, 2001

Sutherland I.W. *J. Microbiology UK.* vol. 147. pp. 3–9, 2001

Tam C.C., O'Brien S.J., Tompkins D.S., Bolton F.J., Berry L., Dodds J., Choudhury D., Halstead F., Iturriza-Gómara M., Mather K., Rait G., Ridge A., Rodrigues L.C., Wain J., Wood B., Gray J.J. *Clin. Infect. Dis.* 54(9): 1275–1286, 2012

Tollersrud T., Kenny K., Caugant D.A., Lund A.A. *PMIS* 108(9): 565–572, 2000

Trachoo N.J. *Sci. Technol.* vol. 25. № 6. pp. 807–815, 2003

Verma V., Harjai K., Chhibber S. *Biofouling*, 26(6), 729–737, 2010

WHO. *Who Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015*

WHO. *Microbiological risk assessment series 11*, 2009

WHO. *Fact sheet №139*, 2013

WHO. *The world health report 2007. A safer future: global public health security in the 21st century.* 2014

WHO. *Food Safety. Fact sheet №399.* 2015

Webb J.S., Lau M., Kjelleberg S.J. *Bacteriol.* vol. 186. No 23. pp. 8066–8073, 2004

Weber-Dąbrowska B., Mulczyk M., Górski A. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 48(6): 547–551, 2000

Weber-Dąbrowska B., Mulczyk M., Górski A. *Transp. Proc.* 35(4):1385–1386, 2003

Weinbauer M.G. *FEMS Microbiol. Rev.* 28:127–81, 2004

Wilson J.E. *Vet Res*, 57, 411–13, 1945

Winter A.R. *Journal of Public Health*, vol. 36, pp. 451–60, 1946
Wirtanen G., Salo S. *VTT Publications* 481: 1-96, 2000
Wittebole X., De Roock S., Opal S.M. *Virulence*. vol. 5. № 1. pp. 226–235, 2014
Wright A., Hawkins C.H., Anggård E.E., Harper D.R. *Clin. Otolaryngol.* 34, 349–357, 2009
Xianming Shi and Xinna Zhu *Trends in Food Science & Technology*. V. 20. № 9. pp. 407–413, 2009
Yan J., Mao J., Xie J. *BioDrugs* 28(3): 265–274, 2013
Yilmaz C., Colak M., Yilmaz B.C., Ersoz G., Kutateladze M., Gozlugol M. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. vol. 95, No 2. pp. 117–125, 2013
Yousef A.E. and Carlstrom C. *Food microbiology: A laboratory manual*, p. 167-205. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2003
Zhang Y. and Hu Z. *Biotechnol. Bioeng.* 110, pp. 286–295, 2013
Zhao S., McDermott P.F., Friedman S., Qaiyumi S., Abbott J., Kiessling C., Ayers S., Singh R., Hubert S., Sofos J., White D.G. *Journal of Food Prot.* 69(3): 500–507, 2006