საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ვასილ ტაბიძე

ბაქტერიოფაგების გაფრქვევის მეთოდით შრობის პროცესის გამოკვლევა სხვადასხვა მასტაბილიზებელი დანამატების თანაობისას

დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარდგენილი დისერტაციის

ა ვ ტ ო რ ე ფ ე რ ა ტ ი

თბილისი
2012 წელი

სამუშაო შესრულებულია საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიის და მეტალურგიის ფაკულტეტის ქიმიური და ბიოლოგიური ტექნოლოგიის დეპარტამენტის პროცესებისა და აპარატების და ზოგადი ქიმიური ტექნოლოგიის მიმართულებაზე

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: სრ. პროფ. რამაზ ქაცარავა
რეცენზენტები: ----------

დაცვა შედგება ---------- წლის ”------” ----------, --------- საათზე საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ---------- ---------- ფაკულტეტის სადისერტაციო საბჭოს სხდომაზე, კორპუსი ----------, აუდიტორია ----------
მისამართი: 0175, თბილისი, კოსტავას 77.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება სტუ-ს ბიბლიოთეკაში, ხოლო ავტორეფერატისა – ფაკულტეტის ვებ-გვერდზე

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი ----------

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

<u>**თემის აქტუალობა**</u>**.** პათოგენური ბაქტერიების ახალი შტამები, რომლებიც მდგრადია პრაქტიკულად ყველა ანტიმიკრობული აგენტის მიმართ, თანამედროვე მედიცინის ერთ-ერთი ყველზე პრობლემატური საკითხია. შიში იმისა, რომ კაცობრიობა უბრუნდება "პრეანტიბიოტიკურ ერას", რეალურია და ალტერნატიული ინფექციის საწინააღმდეგო საშუალებების მოკვლევა და განვითარება თანამედროვე ფარმაციისა და ბიოტექნოლოგიისათვის ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი გამოწვევაა. ანტიბიოტიკების აღმოჩენამდე და მათ ფართო გავრცელებამდე ითვლებოდა, რომ შესაძლებელია ინფექციური დაავადებების პრევენცია და მკურნალობა ბაქტერიოფაგებით. ბაქტერიოფაგები მიმზიდველი თერაპიული აგენტებია შემდეგ გარემოებათა გამო:

1. ისინი ხასიათდება მაღალი სპეციფიკურობით და ეფექტურობით სამიზნე პათოგენური ბაქტერიების მიმართ;

2. მათმა ხანგრძლივმა კლინიკურმა გამოყენებამ ყოფილ საბჭოთა კავშირსა და აღმოსავლეთ ევროპის ქვეყნებში, ასევე კომერციულმა გაყიდვებმა აშშ-ში 1940-ან წლებში, დაადასტურა ბაქტერიოფაგების სრული უსაფრთხოობა;

3. ახალი ბაქტერიული შტამების გაჩენის შემთხვევაში ფაგები სწრაფად მოდიფიცირდება და იბრუნებს ბაქტერიციდულ აქტივობას.

ბაქტერიოფაგები ფართოდ არის ბუნებაში გავრცელებული; ისინი დედამიწის ბუნებრივი ბინადარნი არიან. ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით, ბაქტერიოფაგები ინფექციების (ეპიდემიების) ბუნებრივი მაკონტროლებელნი არიან. ბაქტერიების პოპულაციის გადაჭარბებულ მატებასთან ერთად იწყება მათი ამოქმედება და ინფექციური აგენტების შეზღუდვა. ბაქტერიოფაგები არის ყველგან, სადაც მათი საკვები ბაქტერიებია. ბაქტერიების პოპულაციის კლებასა და გაქრობასთან ერთად გარემოდან ქრება მათი ჰომოლოგიური ფაგებიც.

ბაქტერიოფაგების პრეპარატების, როგორც სამკურნალო-პროფილაქტიკური საშუალებების, ისტორია სათავეს იღებს გასული საუკუნის დასაწყისიდან. ბაქტერიების ბუნებრივი და შეძენილი რეზისტენტობის (მდგრადობის) გამო დღეისათვის მთელ მსოფლიოში

ბაქტერიოფაგების პრეპარატებს განიხილავენ როგორც ანტიბიოტიკების პარალელურ სამკურნალო პრეპარატებს.

ბაქტერიოფაგიების პრეპარატები გამოირჩევა მაღალი თერაპიული ეფექტით და შეუცვლელნი არიან როგორც პროფილაქტიკური საშუალებები. ეს პრეპარატები არატოქსიკურია, უვნებელია, მათი მიღება არ იწვევს თანამდევ მოვლენებს, უკუჩვენება არ აქვთ და მათი მიღება შესაძლებელია ნებისმიერი ასაკისა და რისკის ჯგუფის ადამიანებისათვის. ბაქტერიოფაგების პრეპარატები მიღებისას მოქმედებს მხოლოდ შესაბამის პათოგენურ (ადამიანის ინფექციური დაავადებების გამომწვევ) ბაქტერიებზე და იწვევს მათ დაშლას (ლიზისს). ინფექციების გამომწვევი ბაქტერიების განადგურების შემდეგ ბაქტერიოფაგები ტოვებენ ორგანიზმს.

მეცნიერული კვლევებითა და ლიტერატურული მონაცემებით დადასტურებულია ბაქტერიოფაგების უვნებლობა, როგორც ადამიანისა და ცხოველების ორგანიზმისათვის, ასევე გარემოს მიმართ.

ამგვარად, ზემოთ აღნიშნულიდან გამომდინარე, ბაქტერიოფაგების შესწავლისა და წარმოების აქტუალობა როგორც წმინდა მეცნიერული, ასევე პრაქტიკული მიზნით, უდავოა.

<u>სამუშაოს მიზანს</u> წარმოადგენდა:

1. ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობა სხვადასხვა შემავსებლების, ბაქტერიოფაგებისა და პარამეტრების გამოყენებით.
2. გაფრქვევით შრობის შედარება უკვე დანერგილ ლიოფილურ და პულსაციური წვით შრობასთან.
3. ბაქტერიოფაგების სერიული პრეპარატების ნანონაწილაკების და ძეტა-პოტენციალების კვლევა.

<u>მეცნიერული სიახლე.</u> მშრალი ფაგური პრეპარატების მიღებისას მნიშვნელოვანი პრობლემა არის შემავსებლის შერჩევა. ვინაიდან საკუთრივ ბაქტერიოფაგების (ვირუსების) წონა მშრალ მდგომარეობაში უმნიშვნელოა, ამიტომ ფაგებს აშრობენ სხვადასხვა შემავსებლებთან ერთად. ამ დროს იყენებენ შრობის სხვადასხვა მეთოდებს.

ჩვენს მიერ ამ მიზნით პირველად არის გამოყენებული გაფრქვევით შრობის მეთოდი, რომელიც გამოირჩევა ისეთი უპირატესობებით,

როგორიცაა პროცესის უწყვეტობა, დიდი მწარმოებლურობა, მიღებული პროდუქტის მაღალი სისუფთავე და სხვ.

დადგენილია შრობის ოპტიმალური პირობები და გამოყვანილია შესაბამისი მათემატიკური კანონზომიერება.

ჩვენს მიერ პირველად არის განსაზღვრული ფაგების ზომები და ძეტა-პოტენციალი;

ორიგინალური ბიოდეგრადირებადი პოლიმერული მატრიქსის გამოყენებით დავამზადეთ პოლიმერ/ბაქტერიოფაგის ბიოკომპოზიტები, რისთვისაც გამოვიყენეთ ინოვაციური ტექნოლოგიით მიღებული, არასასურველი მინარევებისაგან თავისუფალი მშრალი ბაქტერიო-ფაგური პრეპარატები, რომლებიც შემავსებლების სახით შეიცავს კალციუმის და მაგნიუმის მარილებს. როგორც წინასწარი გამოკ-ვლევები გვიჩვენებს, კომპოზიტები გამოირჩევა მაღალი აქტივობით.

<u>ავტორის პირადი წვლილი.</u> სადისერტაციო ნაშრომის ყველა ექსპერიმენტი შესრულებულია პირადად ავტორის მიერ. ნანოსაიზერზე კვლევები და შედეგების ინტერპრეტაცია ჩატარებულია უშუალოდ ავტორის მონაწილეობით. ასევე, ავტორის მონაწილეობით ტარდებოდა ბაქტერიოფაგების აქტივობის განსაზღვრის ექსპერიმენტები სს "ბიოქიმფარმში".

<u>პუბლიკაციები.</u> დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებულია 3 სტატია, 1 თეზისი და შეტანილია 1 საპატენტო განაცხადი.

<u>სამუშაოს აპრობაცია.</u> დისერტაციის ძირითადი შედეგები წარდგენილი იყო კავკასიის მეორე საერთაშორისო სიმპოზიუმზე (Second international Caucasian Symposium on Polymers and Advanced Material - 2010);

<u>ნაშრომის სტრუქტურა.</u> ნაშრომი მოიცავს 125 ნაბეჭდ გვერდს, შესავალს, ლიტერატურის მიმოხილვას, შესრულებული სამუშაოს განსჯას, ექსპერიმენტულ ნაწილს, დასკვნას, ციტირებული ლიტერ-ატურის ნუსხას 81 დასახელებით, 13 ნახაზს, 27 ცხრილს, 18 სურათს.

ნაშრომის ლიტერატურის მიმოხილვაში შეკრებილი და გაანალიზე-ბულია ბაქტერიოფაგების აღმოჩენის ისტორია და კვლევის მეთოდები; ფაგების მნიშვნელობა და ადგილი თანამედროვე სამედიცინო პრაქტიკაში; საქართველოში და საზღვარგარეთ არსებული ბაქტერიო-ფაგური პრეპარატების აღწერილობები და შრობის მეთოდები. შრობის

ჩვენს კვლევამდე არსებული სამუშაოები, რომლებიც ეხება ბაქტერიოფაგების შრობის პროცესებს სხვადასხვა მეთოდების გამოყენებით; განხილულია ლიოფილური და პულსაციური წვით შრობის მეთოდები; მოცემულია ამ მეთოდების დადებითი და უარყოფითი მხარეები.

ნაშრომის ძირითადი შინაარსი

1. ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობა როტაციული ატომაიზერით აღჭურვილი აპარატის გამოყენებით

1.1. შესავალი

ბაქტერიების მზარდი რეზისტენტობის გამო დღეისათვის მთელ მსოფლიოში ბაქტერიოფაგების პრეპარატებს განიხილავენ როგორც ანტიბიოტიკების პარალელურ სამკურნალო საშუალებებს. ფაგურ პრეპარატებს აწარმოებენ როგორც ხსნარების (ე.წ. თხიერი ფაგები), ასევე მშრალი პრეპარატები სახით. რიგ შემთხვევებში (კომპოზიტური პრეპარატებისა და აბების მისაღებად) უპირატესობა ენიჭებათ ამ უკანასკნელებს. ფაგების გაშრობა სუფთა სახით პრაქტიკულად შეუძლებელია, ვინაიდან საკუთრივ ფაგების (როგორც ვირუსების) წონა უმნიშვნელოა. ამიტომ შრობის დროს იყენებენ სხვადასხვა შემავსებლებს. საკუთრივ ფაგების გასაშრობად, ძირითადად, იყენებენ ლიოფილური (გაყინვით) შრობის მეთოდს.

ლიოფილური შრობა ხორციელდება სპეციალურ ლიოფილურ საშრობში. გამოსაშრობი მასალა იყინება, თავსდება სპეციალურ აპარატში (ლიოფილიზატორში), სადაც ვაკუუმში წყალი გაყინული მდგომარეობიდან გადადის აირადში და კვლავ გამოიყინება სპეც-იალური მაცივრის (-40°C) ზედაპირზე (სუბლიმირდება). მეთოდის მნიშვნელოვანი ნაკლია პერიოდულობა, მაღალი ენერგომოხმარება, სტერილიზაციის რთული პროცედურები, მცირე წარმადობა. ამიტომ შემოთავაზებული იყო ბაქტერიოფაგების პულსაციური წვით შრობა.

ფაქტობრივად ეს არის გაფრქვევით შრობის ერთ-ერთი ნაირსახეობა, რომელშიც ნიმუშის გაფრქვევა ხდება სპეციალურ, პულსაციური წვის მოწყობილობაში. ბაქტერიოფაგების შრობის ეს ხერხი არ გამოირჩევა ტექნოლოგიური სიმარტივით, რაც დაკავშირებულია პულსაციური წვის გამფრქვევის რთულ კონსტრუქციასა და მაღალ ფასთან. ამასთან ერთად საშრობ ხსნარში გამოიყენეს ისეთი შემავსებლები, რომ მიღებული ფაგების შემცველი ფხვნილი ვარგისია მხოლოდ საკვები პროდუქტებისთვის.

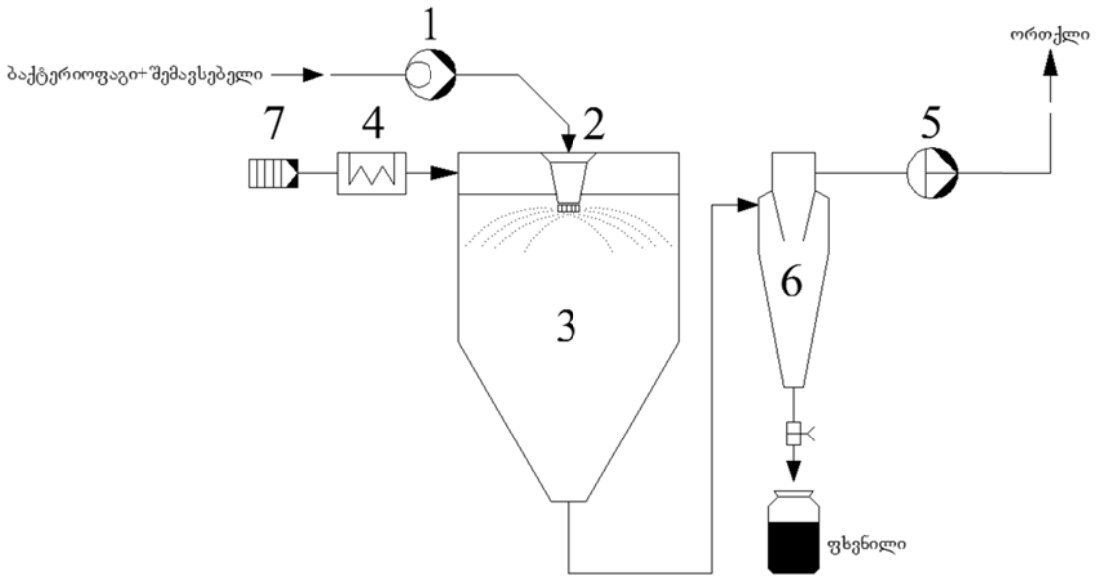
1.2. ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობის კვლევები, შედეგები და განსჯა

ზოგიერთი ავტორის აზრით სწრაფად მბრუნავი როტაციული ატომაიზერი იწვევს ფაგების ინაქტივაციას მექანიკური ზემოქმედების შედეგად.

მივიჩნიეთ რა, რომ ასეთი დასკვნა დაუსაბუთებელია და დაკავშირებული უნდა ყოფილიყო კომერციულ მოსაზრებებთან, გადავწყვიტეთ შეგვესწავლა ბაქტერიოფაგების შრობის პროცესი როტაციული ატომაიზერით (ფრქვევანით) აღჭურვილ შრობის აპარატზე. გამოვიყენეთ კომპანია NIRO MOBILE MINOR™-ის (დანია) გაფრქვევით შრობის აპარატი. მყარ შემავსებლებად შევარჩიეთ კალციუმის გლუკონატი ($C_{12}H_{22}CaO_{14}$) და მაგნიუმის კარბონატი ($MgCO_3$). მათი შერჩევა განპირობებული იყო იმით, რომ ისინი ბაქტერიოფაგების მასტაბილიზებელი ცნობილი ნივთიერებებია და ფართოდ გამოიყენება ფაგურ ტექნოლოგიებში. ვინაიდან ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა მშრალი ფაგური პრეპარატების მიღება ჭრილობის შემახორცებელი პოლიმერული ბიოკომპოზიტების (მაგალითად, ხელოვნური კანის ფაგობიოდერმი®) დასამზადებლად, აღნიშნული ნივთიერებების გამოყენებას აქვს ის უპირატესობაც, რომ მათ შესწევთ უნარი დადებითად იმოქმედონ ჭრილობის შეხორცების პროცესზე, ვინაიდან ცნობილია კალციუმისა და მაგნიუმის იონების პოზიტიური გავლენა ქსოვილების რეგენერაციაზე. აქვე მიზანშეწონილია შევნიშნოთ, რომ გაფრქვევით შრობა არის ინდუსტრიული მასშტაბით ერთ-ერთი

ყველაზე ფართოდ გავრცელებული შრობის მეთოდი, რომელიც იძლევა სასურველი დისპერსულობის მშრალი ფხვნილების უწყვეტი წარმოების საშუალებას. მკვებავი ნაკადი შეიძლება იყოს როგორც ხსნარები, ასევე ემულსიები და სუსპენზიები. მიზნობრივი პროდუქტი აკმაყოფილებს უმაღლეს სტანდარტებს, როგორც ნაწილაკების ზომითი განაწილების, ასევე ნარჩენი ტენიანობის, სიმკვრივისა და ნაწილაკების მორფოლოგიის თვალსაზრისით. გაფრქვევით შრობა საშუალებას იძლევა უფრო მარტივად გადავწყვიტოთ მშრალი ბიოპრეპარატების სტერილურობის პრობლებაც.

თვალსაჩინოებისათვის სურ. 1-ზე მოყვანილია გაფრქვევით შრობის პროცესის სქემა: პერისტალტიკური ტუმბოს (1) მეშვეობით გასაშრობი ხსნარი 0,6-1,2 ლ/სთ სიჩქარით მიეწოდება როტაციულ ატომაიზერზე (ფრქვევანაზე) (2), რის შემდეგაც საშრობ საკანში (3) შედის ნისლად ქცეული ბაქტერიოფაგისა და შემავსებლის ხსნარი ან სუსპენზია. იქ შემავალ ხსნარს ან სუსპენზიას გამათბობელში (4) ხვდება 65-95°C–მდე გაცხელებული ჰაერის ნაკადი, რომელიც მყისიერად აშრობს მას. გამშრალი ფხვნილი საშრობი საკნიდან (3) წარიტაცება გამწოვი ვენტილატორის (5) მეშვეობით, ხოლო ციკლონში (6) ხდება ორთქლისა და ფხვნილის სეპარაცია. გამშრალი ფხვნილი ციკლონიდან იყრება სპეციალურ სტერილურ ჭურჭელში. შრობის პროცესს სჭირდება სულ რამდენიმე წამი, რაც მნიშვნელოვანია ბაქტერიოფაგების აქტივობის შენარჩუნების თვალთახედვით. ასევე მნიშვნელოვანია, რომ საშრობში შესასვლელსა და გამოსასვლელზე აირებს ჰქონდეთ რაც შეიძლება დაბალი ტემპერატურა.



სურ. 1. გაფრქვევით შრობის პროცესის სქემა

1. პერისტალტიკური ტუმბო
2. ფრქვევანა
3. საშრობი საკანი
4. გამათბობელი
5. გამწოვი ვენტილატორ
6. ციკლონი
7. შემბერი ვენტილატორი

ცხრილი.1. *Staphylococcus* და *E.coli* ბაქტერიოფაგის შრობის შედეგები სხვადასხვა შემავსებლის თანაობისას

№	თხევადი ფაგი /შემავსებელი, F	F, %	ხსნარის pH შრობის შემდეგ	საწყისი ტიტრი* (PFU)	ტიტრი* შრობის შემდეგ (PFU)
1	Staphylococcus / $NaHCO_3$	10	7.1	9×10^8	2×10^4
2	E.coli / $NaHCO_3$	10	7.1	5×10^8	2×10^6
3	Staphylococcus / $MgCO_3$	10	7.1	9×10^8	2×10^4
4	E.coli / $MgCO_3$	10	7.1	5×10^8	5×10^5
5	Staphylococcus/$C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$	10	7.1	9×10^8	1×10^6
6	E.coli / $C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$	10	7.1	5×10^8	4×10^6
7	Staphylococcus / $MgCO_3$	8	7.4	3×10^8	0.9×10^6
8	E.coli / $MgCO_3$	8	7.2	1×10^8	1×10^8

*ფაგის ტიტრი გაზომილია გრაციას მეთოდით

ბაქტერიოფაგების ტიტრს (Plaque Forming Unit - PFU) ხსნარებში ვამოწმებდით გრაცის ორშრიანი აგარის მეთოდით. ტიპურ მეთოდიკაში ბაქტერიოფაგის პრეპარატს ანზავებენ 10^4-დან 10^8-მდე სტერილური ბულიონის (თევზის ექსტრაქტი, მარტენი, ხოტინგერი და სხვ.) ან ფიზიოლოგიური ხსნარის დამატებით (განზავებიდან განზავებამდე სტერილურ პიპეტს აუცილებლად ცვლიან). დაწყებული 10^4 განზავებიდან ვიდრე 10^8 განზავებამდე. სტერილურ სინჯარაში გადააქვთ თითო მლ ხსნარისა, რომელსაც ამატებენ ტესტ-კულტურის 0.1 მლ-ს და 2.5 მლ 0.7%-იან 45°C-მდე გამთბარ ნახევრად თხიერ აგარს. აღნიშნულ ნარევს ანჯღრევენ და გადააქვთ (თანაბრად აწილებენ) პეტრის ფინჯნებზე, რომლებზეც წინასწარ დატანილია 1.8%-იან აგარის გელი. 30 წთ-ის შემდეგ პეტრის ფინჯნებს ათავსებენ თერმოსტატში 30-37°C-ზე 12-24 საათით. პრეპარატის ტიტრი (ფაგის შემცველობა პრეპარატის ერთ მლ–ში) განისაზღვრება ფაგის ნეგატიური კოლონიების (ლიზისის ზონების ანუ ლაქების-Plaque) დათვლით პეტრის ფინჯანზე, რის შემდეგაც იყენებენ ფორმულას $n=Y\times X$, სადაც n არის ფაგის ტიტრი, Y –ნეგატიური კოლონიების რიცხვი, X – ფაგის განზავება ფინჯანზე. ვაანალიზებდით როგორც საწყის ხსნარს, ასევე გამშრალ ფაგებს.

გამშრალ ფხვნილებში ფაგის რაოდენობის დასადგენად ფხვნილიდან ვახდენდით ფაგების ექსტრაქციას. ამ მიზნით, მიღებულ მშრალ პრეპარატს ვამატებდით ფიზიოლოგიურ ხსნარს, ინტენსიურად ვურევდით 10-15 წთ, ვაყოვნებდით ფხვნილის დალექვამდე და მიღებული სუპერნატანტიდან გასაანალიზებლად ვიღებდით ალიქვოტს. თანაფარდობას - ფხვნილი, გ/ფიზიოლოგიური ხსნარი, მლ - ვიღებდით ისეთივეს, როგორიც ეს იყო საწყის ნარევში შრობამდე (იხ. ცხრილი 1).

შრობისათვის 200 მლ სტერილური ბაქტერიოფაგის პრეპარატს (საწყისი ხსნარი) ვამატებდით მშრალ $MgCO_3$ ან კალციუმის გლუკონატს $C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$, ისეთი რაოდენობით, რომელიც შეესაბამება ცხრილ 1-ში მოყვანილ მყარი შემავსებლის (F)%-ულ შემცველობას. ბაქტერიოფაგისა და შემავსებლის ნარევს ენერგიულად ვანჯღრევდით ჰომოგენიზაციის მიზნით, ვაშრობდით NIRO MOBILE

MINOR გაფრქვევით საშრობ აპარატზე. შრობის პროცესის რეჟიმი ასეთი იყო: ნარევის მიწოდების სიჩქარე – 1 ლ/სთ, ჰაერის ტემპერატურა შესასვლელზე - 95°C. შრობის შემდეგ მიღებული ერთგვაროვანი ფხვნილი გროვდებოდა სტერილურ ჭურჭელში.

შრობის ექსპერიმენტის შედეგები მოყვანილია ცხრილ 1-ში. როგორც ცხრილიდან ჩანს, გაფრქვევით შრობის პროცესში ფაგების ნაწილობრივი ინაქტივაცია იგივე რიგისაა, რაც ლიოფილური შრობის დროს. თუ გავითვალისწინებთ გაფრქვევით შრობის სიმარტივეს, სიიაფეს, სიჩქარესა და პროცესის უწყვეტ ბუნებას, ამ პროცესის უპირატესობა ლიოფილურ შრობასთან შედარებით აშკარაა. დადგენილია, რომ შედარებით მგრძნობიარე როტაციული ატომაიზერით გაფრქვევით შრობის პროცესის მიმართ არის *Staph.* ფაგი, ხოლო უფრო გამძლე - *E.coli* ფაგი. ამასთან, *Staph.* ფაგის ტიტრის ვარდნა ოპტიმალური შემავსებელისა და კონცენტრაციის პირობებში ($MgCO_3$, 8%) შეადგენს ~2 რიგს (ნიმუში №7), რაც ანალოგიურია ადრე პულსაციური წვის მფრქვევანას გამოყენებით მიღებული შედეგისა, ხოლო *E.coli* ფაგის ტიტრის ვარდნა იგივე პირობებში საერთოდ არ შეინიშნებოდა (ნიმუში №8). მიღებული გამშრალი *Staph.*ფაგის და ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდის საფუძველზე დამზადდა პრეპარატ "ფაგობიოდერმის" მონოფაგიანი ანალოგი, რომელმაც გამოავლინა მაღალი ბაქტერიციდული აქტივობა (+3).

2. ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობის პროცესის ოპტიმიზაცია

შრობის ოპტიმალური პარამეტრების დადგენისთვის შემავსებლად გამოვიყენეთ $C_{12}H_{22}CaO_{14}/MgCO_3$ (50:50 წონით) ნარევი და *E.coli* ბაქტერიოფაგის ხსნარი ტიტრით 1×10^8 ფაგი/მლ. შემავსებელს გარკვეული რაოდენობით ვამატებდით ბაქტერიოფაგის ხსნარში და ვახდენდით ნარევის ჰომოგენიზაციას.

ვაწარმოებდით შემდეგი პარამეტრების ვარირებას:

- შემავსებლის კონცენტრაცია ხსნარში: 6 და 10 %;
- ტემპერატურა საშრობი აპარატის შესასვლელზე: 75 და 95°C;

- მკვებავი ნაკადის სიჩქარე: 0,6 და 1,0 ლ/სთ-ში.

მიღებულ მშრალ პროდუქტში ბაქტერიოფაგის ტიტრს ვსაზღვრავდით გრაცის სტანდარტული ორშრიანი აგარის მეთოდით.

გაფრქვევით შრობის ოპტიმალური პარამეტრების დადგენის მიზნით გამოვიყენეთ ექსპერიმენტის დაგეგმვის მათემატიკური მეთოდი. საოპტიმიზაციო პარამეტრად შევარჩიეთ *E-coli* ბაქტერიოფაგის ტიტრი, ხოლო პროცესზე მოქმედ ფაქტორებად ტემპერატურა (X_1), ნაკადის სიჩქარე (X_2) და ხსნარის კონცენტრაცია (X_3).

2^3 ტიპის მათემატიკური მოდელის ექსპერიმენტული დაგეგმვის პირობები, დაგეგმვის მატრიცა კოდირებულ ცვლადებში წარმოდ-გენილია ცხრილებში №2 და №3:

ცხრილი 2. ექსპერიმენტის დაგეგმვის პირობები

ფაქტორები	-	0	+	ვარირების ინტერვალი
ტემპერატურა (T) ^oC	75,0	85,0	95,0	10
ნაკადის სიჩქარე (V) , ლ/სთ	0,6	0,8	1,0	0,2
კონცენტრაცია (C), %	6,0	8,0	10,0	2

ცხრილი 3. დაგეგმვის მატრიცა კოდირებულ ცვლადებში

#	X_0	X_1 (T)	X_2 (V)	X_3 (C)	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	Y_1	Y_2	Y	S_i^2
1	+1	-	-	-	+	+	+	-	$1x10^8$	$6x10^7$	$8x10^7$	$8x10^{14}$
2	+1	+	-	-	-	-	+	+	$1x10^8$	$5x10^7$	$7.5x10^7$	$1.25x10^{15}$
3	+1	-	+	-	-	+	-	+	$1x10^8$	$5x10^7$	$7.5x10^7$	$1.25x10^{15}$
4	+1	+	+	-	+	-	-	-	$1x10^8$	$6x10^7$	$8x10^7$	$8x10^{14}$
5	+1	-	-	+	+	-	-	+	$5x10^6$	$1x10^6$	$3x10^6$	$8x10^{12}$
6	+1	+	-	+	-	+	-	-	$4x10^6$	$2x10^6$	$3x10^6$	$2x10^{12}$
7	+1	-	+	+	-	-	+	-	$5x10^6$	$3x10^6$	$4x10^6$	$2x10^{12}$
8	+1	+	+	+	+	+	+	+	$7x10^6$	$3x10^6$	$5x10^6$	$8x10^{12}$

№3 ცხრილში, აგრეთვე, მოცემულია პარალელურ ცდებში *E-coli* ბაქტერიოფაგის გადარჩენილი რაოდენობის Y_1 და Y_2 მნიშვნელობები და გადარჩენილი რაოდენობის საშუალო მნიშვნელობა Y.

2^3 ტიპის სრული ფაქტორული ექსპერიმენტის საფუძველზე განსაზღვრულია წრფივი რეგრესიული განტოლებების კოეფიციენტები და მიღებულია შემდეგი განტოლება:

$$Y = 40{,}6x10^6 + 1{,}25x10^5X_1 + 3{,}75x10^5X_2 - 36{,}87x10^6X_3 + 13{,}75x10^5X_1X_2 + \\ +1{,}25x10^5X_1X_3 + +37{,}75x10^5X_2X_3 - 11{,}25x10^5X_1X_2X_3$$

მიღებული განტოლება ადექვატურობაზე შემოწმდა ფიშერის F კრიტერიუმით, ხოლო ცდებში დისპერსიულობის შეფასება განხორციელდა G კრიტერიუმით, რომელთა გამოთვლილი მნიშვნელობები ნაკლები აღმოჩნდა 95%-იანი რწმუნების ალბათობის ცხრილურ მნიშვნელობაზე, რაც მიუთითებს, რომ მიღებული განტოლება ადექვატურად აღწერს პროცესს, ხოლო დისპერსია დასაშვებ ზღვრებშია.

რეგრესიის განტოლების სტიუენდის კრიტერიუმით შეფასებამ გვიჩვენა, რომ მხოლოდ X_3-ის კოეფიციენტია მნიშვნელოვანი და მისი უარყოფითი ნიშანი განაპირობებს იმას, რომ ამ ფაქტორის (ბაქტერიოფაგის და შემავსებლის ხსნარის კონცენტრაციის) შემცირება გაზრდის გადარჩენილი ბაქტერიოფაგების რაოდენობას.

3. *E.coli* და *Staphylococcus aureus* ბაქტერიოფაგების კვლევა დინამიკური შუქგაბნევის მეთოდის გამოყენებით

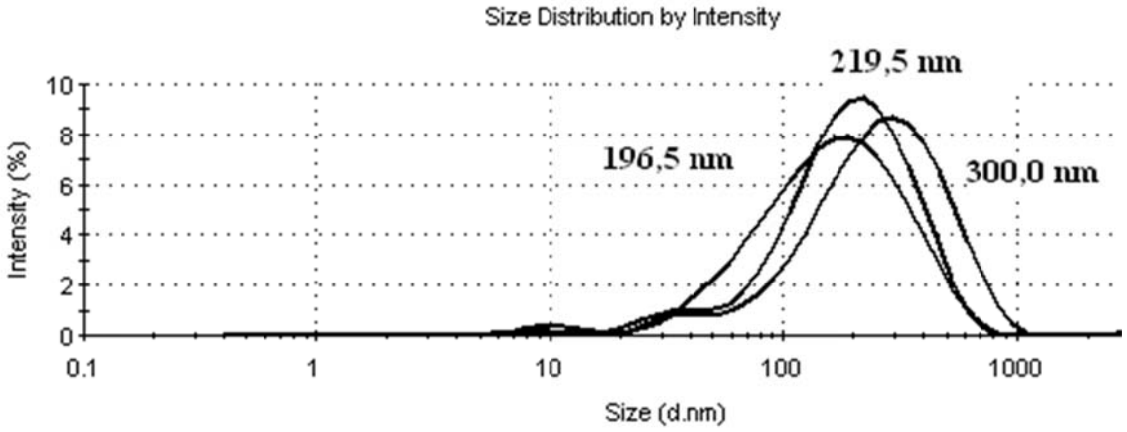
სხვადასხვა ფიზიკურ-ქიმიური მეთოდებით დადგენილია, რომ ბაქტერიოფაგები წარმოადგენს უარყოფითად დამუხტულ, 25-200 ნმ ზომის ნაწილაკებს, ანუ ნანონაწილაკებს. ამ მიზნებისათვის ადრე გამოყენებული კვლევის მეთოდების უმეტესობა საკმაოდ უხეში და შრომატევადია. გაცილებით პერსპექტიულია თანამედროვე მეთოდები, რომლებიც ემყარება ლაზერის სხივის დინამიკურ შუქგაბნევას (Dynamic

light-scattering). ამ პრინციპით მოქმედი თანამედროვე ხელსაწყოები (ზეტა-საიზერები - zetasizer) საშუალებას იძლევა სწრაფად და ეფექტურად განვსაზღვროთ ერთდროულად ორივე პარამეტრი – ნანონაწილაკის ზომები და ზედაპირული მუხტი (ძეტა-პოტენციალი), შევაფასოთ პოლიდისპერსიულობა, ამასთან შევისწავლოთ აღნიშნული პარამეტრების სხვადასხვა ფაქტორებზე (კონცენტრაცია, pH, იონური ძალა და სხვ.) დამოკიდებულება, რაც საშუალებას მოგვცემს მიზანდასახულად ვმართოთ ფაგები ზემოთ ნახსენებ პროცესებში.

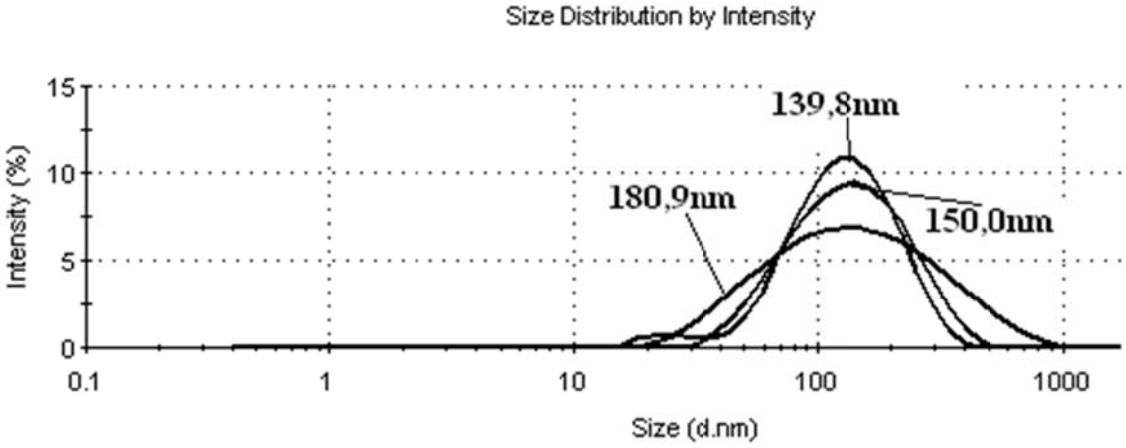
ლიტერატურაში მოიპოვება ძალზე მწირი მონაცემები ბაქტერიო-ფაგების ზომისა და ძეტა-პოტენციალის შესახებ, ხოლო ჩატარებული კვლევები მიზნად ისახავდა ტექნოლოგიური ამოცანების გადაწყვეტას, კერძოდ მინერალური ნედლეულის გამდიდრებას. წინამდებარე კვლევა წარმოადგენს სამკურნალო ბაქტერიოფაგების კვლევის პირველ მცდელობას ლაზერული ზეტა-საიზერის გამოყენებით.

კვლევისათვის შევარჩიეთ ორი მონოფაგი – *E.coli* და *Staphylococcus aureus* – სს "ბიოქიმფარმის" სერიული პრეპარატები. ბაქტერიოფაგების ზომებს, ზომების განაწილებასა და ძეტა-პოტენციალს ვსაზღვრავდით Zetasizer Nano (Malvern Instruments, Malvern, UK) ანალიზატორზე, სინათლის წყარო – წითელი ლაზერი (633 ნმ); ვიყენებდით ერთჯერად პოლიკარბონატულ კიუვეტებს DTS1060 (Malvern Instruments). საწყის ნიმუშებს ვანზავებდით, რისთვისაც მათ 1 მოცულობას ვამატებდით 1, 2, 5 და 10 მოცულობა გამოხდილ წყალს; შემდგომი განზავებისას (1:20) ნაწილაკების კონცენტრაცია მცირდება იმდენად, რომ სცდება ხელსაწყოს მგრძნობელობის ზღვარს. ვზომავდით საწყისი და განზავებული ნიმუშების pH-ს, რისთვისაც ვიყენებდით ელექტრონულ pH მეტრს "Cheker pH Tester" (Hanna Instruments, USA). ფაგების პოლიდისპერსიულობას ვაფასებდით სიდიდით %პოლიდისპერსიულობა (%Polydispersity, %PD), რომელიც იანგარიშება ფორმულით $(PDI)^{1/2} \cdot 100$, სადაც PDI არის პოლიდისპერსიულობის ინდექსი (Polydispersity Index), რომელსაც ავტომატურად იძლევა ხელსაწყო. მიღებულია, რომ თუ %PD$\leq$20%, ნიმუში მონოდისპერსულია, ხოლო თუ %PD$\geq$40-50%, განაწილება ფართოა.

ბაქტერიოფაგების *E.coli* და *Staphylococcus* ზომების ტიპური ექსპერიმენტული მრუდები, სამ კონცენტრაციაზე, მოყვანილია ნახ-ზე 1 და 2, ხოლო ზეტა-პოტენციალის მრუდები ასევე სამ კონცენტრაციაზე - ნახ-ზე 3 და 4.



ნახაზი. 1. *E.coli*ფაგის ზომა, ნმ: (a) საწყის ხსნარში – 300,0; (b) 1:5 წყლით განზავებისას - 219,5; (c) 1:10 წყლით განზავებისას - 196,5. საწყისი ხსნარის ტიტრი 10^8 PFU.

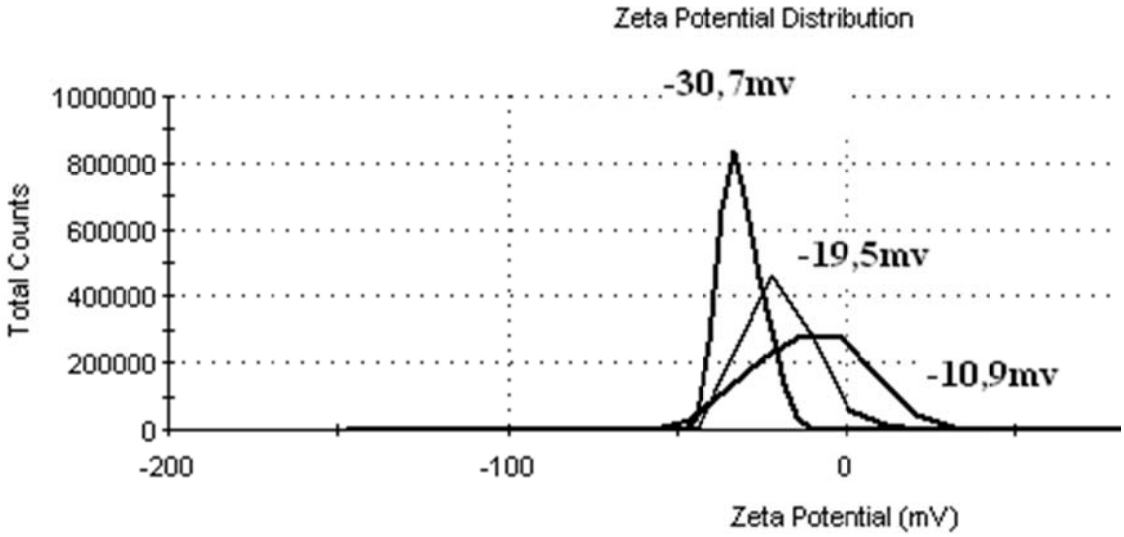


ნახაზი. 2. *Staphylococcus* ფაგის ზომა, ნმ: (a) საწყის ხსნარში- 180,9; (b)5x წყლით განზავებისას - 150,0; (c)10x წყლით განზავებისას – 139,8. საწყისი ხსნარის ტიტრი 10^8 PFU.

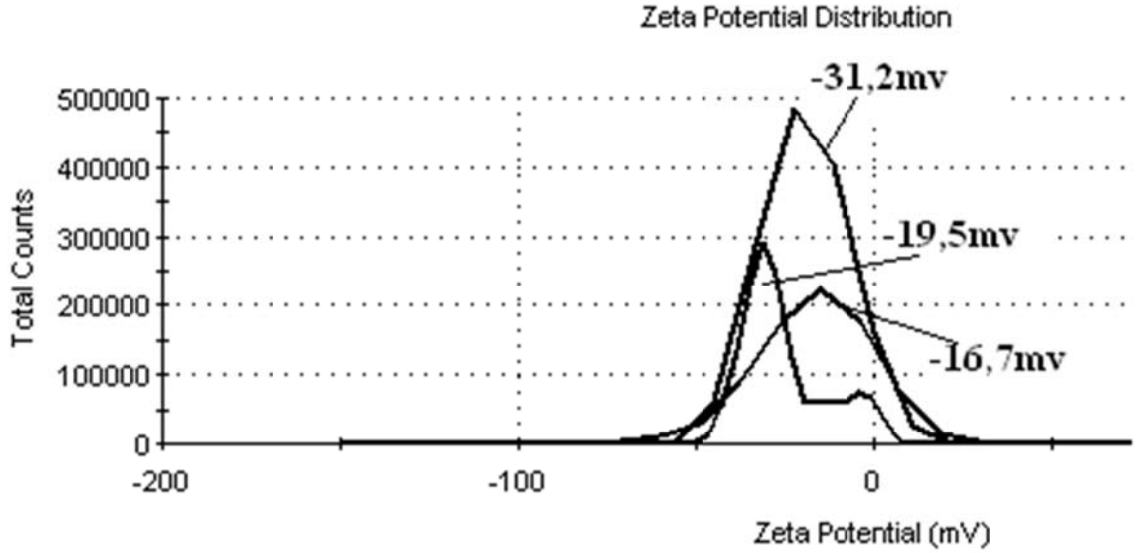
ექსპერიმენტების შედეგები, მიღებული ფაგების ხსნარების ხუთი კონცენტრაციისათვის - ბაქტერიოფაგების ზომები, ძეტა-პოტენციალი და %PD, შეჯამებულია ცხრილ 1-ში. აქვეა მოყვანილი ნიმუშების pH, რომელიც განზავებისას პრაქტიკულად არ იცვლებოდა.

ბაქტერიოფაგების ზომები. E.coli ფაგების საშუალო ზომა საწყის სერიულ პრეპარატში 300 ნმ-ის ტოლია, რაც საკმაოდ მაღალია

ფაგებისათვის. წყლით განზავებისას ეს ზომები მონოტონურად მცირდება და 1:10 განზავებაზე შეადგენს, 196 ნმ-ს, ანუ შემცირდა 1,53-ჯერ. შედარებით ნაკლებად მგრძნობიარე განზავების მიმართ აღმოჩნდა *Staphylococcus* ფაგები – მათი ზომები 1:10 განზავებაზე შემცირდა 180 ნმ-დან 140 ნმ-მდე (1,29-ჯერ). ორივე შემთხვევაში განზავებულ ხსნარებში ფაგების ზომები შეესაბამება ლიტერატურაში აღწერილს.



ნახაზი. 3. *E.coli* ფაგის ზეტა პოტენციალი, მილივოლტებში: (a) საწყის ხსნარში -10,9; (b) 1:5 წყლით განზავებისას -19,5; (c) 1:10 წყლით განზავებისას - 30,7. საწყისი ხსნარის ტიტრი 10^8 PFU.



ნახაზი. 4. *Staphylococcus* ფაგის ზეტა პოტენციალი, მილივოლტებში: (a) საწყის ხსნარში – (-16,7); (b) 1:5 წყლით განზავებისას -19,5; (c) 1:10 წყლით განზავებისას - -31,2. საწყისი ხსნარის ტიტრი 10^8 PFU.

ფაგების ზომების შემცირება განზავებისას შეიძლება ავხსნათ ან ასოცირებული ვირუსების კლასტერების დისოციაციით ან/და ფაგების,

საკვები არის და ბაქტერიების ლიზისის კომპონენტების (პეპტიდების, ცილების, ელექტროლიტების) კომპლექსების დისოციაციით. ვინაიდან განზავება პრაქტიკულად არ ახდენს გავლენას ბაქტერიოფაგების პოლიდისპერსიულობაზე (იხ. ცხრილი №4). სავარაუდოა, რომ ზომების შემცირება გამოწვეულია კომპლექსების დისოციაციით, ვინაიდან მოსალოდნელი იყო, რომ კლასტერების დისოციაციას უნდა ემოქმედა პოლიდისპერსიულობის ხარისხზე.

ცხრილი 4. *Staphylococcus* და *E.coli* ბაქტერიოფაგების ზომა, %PD და ძეტა-პოტენციალი.

ბაქტერიოფაგი	pH	დისტილირებული წყლით განზავება (v:v)	ზომა, ნმ	%Pd	ზეტა-პოტენ-ციალი, mV
E.coli	7,7	საწყისი ხსნარი	300,7	65	-10,9
		1:1	260,7	67	-15,2
		1:2	232,6	64	-18,9
		1:5	219,5	63	-19,5
		1:10	196,5	63	-30,7
Staphylococcus	7,5	საწყისი ხსნარი	180,9	65	-16,7
		1:1	150,0	69	-19,5
		1:2	146,3	59	-23,5
		1:5	142,0	70	-28,9
		1:10	139,8	65	-31,2

ბაქტერიოფაგების ძეტა-პოტენციალი. ძეტა-პოტენციალი, ძირითადად, ნანონაწილაკის ზედაპირის მუხტის დახასიათებლად გამოიყენება. ძეტა-პოტენციალი ნაწილაკის ელექტრულ პოტენციალს ასახავს, დამოკიდებულია ნაწილაკის შემადგენლობასა და დისპერსულ არეზე. ექსპერიმენტულად დადგენილია, რომ ნანონაწილაკების სუსპენზია სტაბილურია, თუკი ძეტა პოტენციალის მნიშვნელობა აღემატება (+/-) 30 მილივოლტს (mV); ამ შემთხვევაში ზედაპირის მუხტი ხელს უშლის ნაწილაკების აგრეგაციას.

დასკვნა

1. ექსპერიმენტული მონაცემების ანალიზის შედეგად მოხდა ბაქტერიოფაგის შრობის ოპტიმალური პარამეტრების შერჩევა. დადგინდა ოპტიმალური სამუშაო პარამეტრებია:
   - pH (7.1-7.2), ტემპერატურა (75-95^{0}C);
   - ნაკადის სიჩქარე (0.6-1.0ლ/სთ);
   - კონცენტრაცია (6-10%).
2. გამოკვლეულ იქნა რამოდენიმე ტიპის შემავსებელი (ნატრიუმის ბიკარბონატი, მაგნიუმის კარბონატი, კალციუმის გლუკონატი და მათი ნარევი), საიდანაც შეირჩა ის ოპტიმალური შემავსებელი (**$MgCO_3$** + $C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$ (50/50 w/w), რომელშიც ხდება ბაქტერიოფაგის მაქსიმალურად გადარჩენა.
3. დადგენილია, რომ ყველაზე მგრძნობიარე შრობის პროცესის მიმართ არის *Staph.*ფაგი, ხოლო ყველაზე გამძლე - *E.coli* ფაგი.
4. გაფრქვევით შრობის პროცესში ფაგების ნაწილობრივი ინაქტივაცია ისეთივე რიგისაა, როგორიც ლიოფილური შრობის დროს. გაფრქვევით შრობის სიმარტივის, სიიაფის, სიჩქარის და პროცესის უწყვეტი ბუნების გათვალისწინებით ცხადია ამ პროცესის აშკარა უპირატესობა ლიოფილურ შრობასთან შედარებით.
5. მიღებული გამშრალი *Staph.*ფაგის, *e.coli*ფაგის და ბიოდეგრადირებადი პოლიესტერამიდების საფუძველზე დამზადდა პრეპარატ "ფაგობიოდერმის" მონოფაგიანი ანალოგი, აგრეთვე წვრილდისპერსული ფხვნილი, რომლებმაც გამოავლინეს საკმაოდ მაღალი ბაქტერიციდული აქტივობა (+2 და +3).
6. ლაზერის სხივის დინამიკურ შუქგაბნევის (Dynamic light-scattering). მეთოდით დადგინდა საქართველოში წარმოებული სერიული მონოფაგების *Staphylococcus* და *E.coli*–ის ზომა, %PD და ძეტა-პოტენციალი.

სადისერტაციო ნაშრომის ძირითადი შედეგები გამოქვეყნებულია შემდეგ შრომებში:

1. ტაბიძე ვ., გოგიბერიძე ა., ღოლიჯაშვილი ა., გვასალია ლ., ქაცარავა რ., ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობის პროცესის ოპტიმიზაცია მათემატიკური მოდელირების გამოყენებით, საქართველოს ქიმიური ჟურნალი, 2011, 11(2), 230-232.

2. ტაბიძე ვ., გაფრინდაშვილი რ., ღოლიჯაშვილი ა., ქაცარავა რ., ბაქტერიოფაგების გაფრქვევით შრობა როტაციული ატომაიზერით აღჭურვილი აპარატის გამოყენებით, Georgian Engineering News, 2011, 60(4), 98-101.

3. ტაბიძე ვ., თოიძე პ., ქაცარავა რ., *E.coli* და *Staphylococcus aureus* ბაქტერიოფაგების კვლევა დინამიკური შუქგაბნევის მეთოდის გამოყენებით, კერამიკა, 2012, 1(27), 51-55.

Abstract

The present study is dedicated to spray drying of bacteriophages with various fillers, parameters and bacteriophages. The survey is compared with already implemented freeze drying and pulse combustion drying. For the first time it is investigated nanoparticles and Zeta-potentials of bacteriophage preparations.

Drying process was studied on GEO NIRO MOBILE MINOR™ (Denmark) spray drying apparatus. Since the bacteriophages (as virus) weight is insignificant, it is virtually impossible to obtain pure dry bacteriophages. We used various fillers: Calcium Gluconate ($C_{12}H_{22}CaO_{14}$) and Magnesium Carbonate ($MgCO_3$). Their selection has been pointed out because they are well-known bacteriophage stabilizing substances. In addition, these substances may play a buffer role if necessary. Guided, as well, as we use dry phages in wound healing therapy, such as artificial skin Phagobioderm®, calcium and magnesium ions can play a positive role in tissue healing process.

For obtaining optimal parameters for drying, as filler was used $C_{12}H_{22}CaO_{14}/MgCO_3$ (50:50 weight) mixture and *E.coli* solution with titer 1×10^8 phage/ml. A certain amount of filler was added in *E.coli* bacteriophage mixture and solution was homogenized. We varied the following parameters:

- Filler concentration in solution, 6 and 10%;
- Temperature at the entrance to the drying chamber 75 and 95°C;
- Feeding flow rate: 0.6 and 1.0 L/h.

To determine the optimal drying parameters of spray drying was used mathematical method of experiment planning. As optimizing parameter was selected titer of *E-coli* bacteriophage, and as factors influencing on process were selected: temperature, flow rate and solution concentration.

On the basis of a complete factor experiment type 2^3 linear regression equation coefficients are determined and obtained the following equation:

$$Y = 40{,}6x10^6 + 1{,}25x10^5X_1 + 3{,}75x10^5X_2 - 36{,}87x10^6X_3 + 13{,}75x10^5X_1X_2 + \\ +1{,}25x10^5X_1X_3 + 37{,}75x10^5X_2X_3 - 11{,}25x10^5X_1X_2X_3.$$

The adequacy of the equation was checked for Fisher's F criteria and with G criteria experiments disspersial assessment were carried out, which calculated values are less than 95% then table values, which indicates that the equation adequately describes the process and the dispersion is in allowable extents.

Regression equation for Stuend assessment showed that only X_3 coeficient is important and its negative value shows that reducing that factor (concentration of bacteriophage and filler solution) is increasing the number of surviving bacteriophages.

Research results revealed that the survival of bacteriophage numerical value is very high, which indicates that we have selected the optimal settings. In general, the increasing of temperature (within reasonable limits) and flow velocity, and reducing the concentration of the solution always increases the number of surviving bacteriophages.

Were studied the impact of changing concentrations on titer of bacteriophage solutions and the data shows that with increase of concentration decreases the number of bacteriophage survival. Which enable us to conclude that the decrease of drying solution concentration increases the chances of survival of bacteriophages.

The experiments confirmed that during spray drying of sodium and bacteriophage solution number of survived bacteriophages is significantly reduced. With our opinion the main cause of this was sodium solutions high pH. The results showed that there is no significant changes in the sodium solution pH in spite of the different drying parameters and addition of HCL is not lowering pH. Therefore, the use of sodium solution with bacteriophages less desirable, but with the drying method used by us we were able to obtain dry sodium and bacteriophages with high activity.

In the manufacturing process of drying solution, in purpose of sterilization, it is added a certain number of chloroform. After adding chloroform was studied phage titer fall. Studies have shown that under the influence of chloroform (1 ml phage + 9 ml broth + 1 ml chloroform) phage initial titer - 4×10^8 part/ml after 168 hours dropped to only 3 units (1×10^8 part/ml), which showed that chloroform has no significant effect on the fall of phage titer, but the minimal level drop of titer is still linked to it.

We impregnated dry bacteriophages in biodegradable polyesteramide films. For this purpose the necessary ingredients for a composite were mechanicaly mixed. Were added a number of enzymes (α-Chymotrypsin, Trypsin, Lipase), which is necessary for biocomposite design, as well added surface-active substances needed (Tweens and Sodium dodecilsulphate) for producing high dispersity porous systems. Composites containing dry bacteriophages prepared at room temperature.

We mix solution with mechanical mixing (2000 min^{-1}). Was selected *Staphylococcus* phage, which showed resistance to mechanical impact.

Different physical-chemical methods revealed that bacteriophages is negatively charged, particles size with 25-200 nm or nanoparticles. Most of the methods previously used for the purposes of this research is quite rough and time-consuming. More perspective are modern methods, which are based on dynamic laser beam scattering. The operating principle of this modern tools (zetasizer) allows us to quickly and effectively determine both parameters - size and surface charge (zeta - potential) of nanoparticles.

Research aimed solution of wide range of technological problems, as well our study was the first attempt of study the therapeutic bacteriophages using laser zeta - sizer.

The average size of the initial *E.coli* preparation is 300 nm, which is quite high for phages. After diluting with water 1:10 size of particles decreased till 196 nm, ie, decreased for 1,53 times. Less sensitive was dilution of *Staphylococcus* phages - their sizes are reduced to 180-140 nm after 1:10 dilution (1.29 times). In both cases the sizes of bacteriophages in diluted solutions are as described in literature.

Reduce of sizes of bacteriophages may be explained by associated virus cluster dissociation and / or with bacterias lysis components (peptides, proteins, electrolytes) complexes disotiation. Dilution practicaly has no influence on polidispersity of bacteriophages. Likely the decrease in size is due to complex dissociation, because it was expected that the dissociation of clusters had to act on polydispersity.

Zeta-potential usualy used for characterisation of surface charge of nanoparticles. Zeta-potential reflects the electric potential of these particles and depends on particle composition and dispersial area. Experimentally established that suspension of nanoparticles are stable if zeta-potential value is more than (+ /-) 30 milivolts (mV), in this case, the surface charge prevents aggregation of particles.

Zeta-potential of studied bacteriophages in initial solutions are negative. After disolution negative charge of viruses, ie, negative zeta-potential increases and after diluting 1:10 times reaches stabile nanoparticles at -30.7 and -31.2 mV, *E.coli* and *Staphylococcus*, respectively. Increasing of negative zeta-potential after diluting in

phages, presumably, can be explained with disotiation of complexes mentioned above. In addition, as well as in case of sizes, these changes are more severe for *E.coli*, from which we can conclude that they are more inclined towards forming complexes. We can assume that bacteriophage sizes free from food and components of lysis, polydispersity, and zeta-potential are less dependent on the concentration of them in the solution. Our research objective is further study of highpurity bacteriophages.

Thus, we determined the optimal working parameters for drying bacteriophages: pH (7.1-7.2), Temperature (75-95^{0}C), flow rate (0.6-1.0 l/h), concentration (6-10%). Examined several types of filler (sodium bicarbonate, magnesium carbonate, calcium gluconate and their mixture), from which was selected as optimum filler **(**$MgCO_3$ + $C_{12}H_{22}CaO_{14}\cdot H_2O$ (50/50 w/w)), in which survival of bacteriophage are maximal. It is established that the most sensitive in drying process is *Staph*. phage, and the most durable - *E.coli* phage. In spray drying process the partial inactivation of phages are same as in freeze drying. Because of Spray Drying simplicity, cheap, speed, and continuous nature of this process it has an obvious advantage against Freeze drying. On the basis of obtaind dry *Staph*. phage and biodegradable polyesteramide is made preparation "Phagobioderm" monophage analogue, which showed high bactericidal activity (+3).