საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

სალომე ბარბაქაძე

ბაქტერიოფაგის შემცველი პასტილების მიღების ტექნოლოგიის დამუშავება და მათი ბიოლოგიური აქტიურობის განსაზღვრა

სადოქტორო პროგრამა - ქიმიური და ბიოლოგიური ინჟინერია

შიფრი - 0410

დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად წარდგენილი

დისერტაციის

ა ვ ტ ო რ ე ფ ე რ ა ტ ი

თბილისი 2021 წელი

სამუშაო შესრულებულია საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტის ქიმიური და ბიოლოგიური ტექნოლოგიების დეპარტამენტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: **პროფესორი თეიმურაზ ბუაჩიძე**
სამეცნიერო თანახელმძღვანელი: **ბ.მ.დ ირინა ჭყონია**

რეცენზენტები: _____

_____

დაცვა შედგება ----------წლის”------”----------, ---------საათზე საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ქიმიური ტექნოლოგიისა და მეტალურგიის ფაკულტეტის სადისერტაციო კოლეგიის სხდომაზე, კორპუსი----------, აუდიტორია ---------- მისამართი: 0175, თბილისი, კოსტავას 69.

დისერტაციის გაცნობა შეიძლება საქართველოს ტექნიკური უნივერსიტეტის ბიბლიოთეკაში, ხოლო ავტორეფერატის - ფაკულტეტის ვებ -გვერდზე

სადისერტაციო კოლეგიის მდივანი

ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

თემის აქტუალურობა: მსოფლიო ჯანდაცვის ორგანიზაციის (WHO) სტატისტიკური მონაცემების მიხედვით პირის ღრუსა და ზედა სასუნთქი გზების ინფექციებით მოზარდების 60-90% და ზრდასრულთა თითქმის 100% ერთხელ მაინც ყოფილა დაინფიცირებული. ზედა სასუნთქი გზები წარმოადგენს "კარს" არა მხოლოდ პათოგენური ფლორით ინფიცირებისათვის, არამედ ოპორტუნისტული ინფექციის განვითარებისთვისაც. აღნიშნული ინფექციები გამოირჩევა დაავადების მაღალი სიხშირით ასევე თუ გავითვალისწინებთ მკურნალობაზე დახარჯულ თანხასა და დროებითი შრომუსუუნარობით გამოწვეულ დანაკარგებს იგი სერიოზული ეკონომიკური ტვირთიცაა ქვეყნისათვის.

2019 წელს ჩატარებული დაავადებების გლობალური კვლევების შედეგების მიხედვით მსოფლიოში 3,58 მილიარდ ადამიანს აწუხებს პირის ღრუს დაავადებები. ყოველ წელს მილიონობით ადამიანი ავადდება პირის ღრუს ლორწოვანი გარსის და პაროდონტის დაავადებებით, ზედა სასუნთქი გზების ინფექციებით (ტრაქეიტი, ფარინგიტი, ანგინა, ტონზილიტი, და ა.შ.) რომელთა აერობულ გამომწვევებს შორის წამყვანი ადგილი უკავია სტრეპტოკოკს, სტაფილოკოკის, ენტეროკოკს, პათოგენურ კოლის და სხვა ანაერობულ პათოგენებს.

მკურნალობისთვის ყველაზე ხშირად იყენებენ ანტიბიოტიკებს მისდამი დაავადებათა აღმძვრელის მგრძნობელობის განსაზღვრის გარეშე. ამგვარი მკურნალობის პროცესში მგრძნობელობა იკლებს, რის შედეგადაც მიკრობი ხდება რეზისტენტული. ასეთ შემთხვევაში ნაკლებ მგრძნობიარე ბაქტერიები ხვდებიან ინფიცირების ადგილებში, ჩირქოვან-ანთებითი პროცესების მზარდი რიცხვი გამოწვეულია ანტიბიოტიკების მიმართ მიკრობთა რეზისტენტობით. მიუხედავად ახალი პრეპარატებისა და სხვადასხვა სახის სამკურნალო საშუალებების სიმრავლისა, ანთებითი დაავადებები რჩება აქტუალურ პრობლემად. სამედიცინო პრაქტიკაში მულტირეზისტენტული მიკრობებით გამოწვეული ინფექციების სიმრავლემ

და მათთან ბრძოლის სირთულემ კვლავ ყურადღების ცენტრში მოაქცია ფაგოთერაპია. საქართველო იყო ერთ-ერთი ნოვატორი ქვეყანა, სადაც ფაგური პრეპარატები გამოიყენებოდა სამკურნალო-პროფილაქტიკური დანიშნულებით. ჩატარებული ლაბორატორიული გამოკვლევებით და ბაქტერიოფაგური პრეპარატებით მკურნალობის მრავალწლიანი ისტორიით დადასტურებილია ბაქტერიოფაგით მკურნალობის მაღალ ეფექტურობა და უვნებლობა. გ. ელიავას ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტს საუკუნოვანი ისტორია აქვს ფაგური პრეპარატების კვლევის და ფაგოთერაპიაში მათი გამოყენების. ინსტიტუტის ბაზაზე დაარსებულია შპს „ბიოპრეპარატები", რომელიც აწარმოებს 6 კომბინირებულ სერიულ ფაგს. ინსტიტუტის ბაზაზე დაარსებულია ფაგოთერაპიის ცენტრი, რომელიც მკურნალობს პაციენტებს მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნიდან.

გ. ელიავას სახელობის ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის (ბ.მ.ვ.ი) ზოგადი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის ძირითად საქმიანობას წარმოადგენს სხვადასხვა ფაგური პრეპარატების შექმნა, მათი წარმოების ტექნოლოგიის დამუშავება და ანტიმიკრობული აქტიურობის შესწავლა ფაგოთერაპიაში დანერგვის მიზნით. პრეპარატის გვერდითი ეფექტების არ არსებობის გამო მას განსაკუთრებით დიდი გამოყენება აქვს ბავშვებში, ორსულებში, მეძუძურ დედებში. წარმოდგენილი შესრულებული სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა ბაქტერიოფაგის შემცველი პასტილების წარმოების ტექნოლოგიის დამუშავება. პასტილები შეგვიძლია განვიხილოთ, როგორც ფაგის ერთგვარი დეპო, საიდანაც ეტაპობრივად მოხდება ფაგის გამოთავისუფლება, რაც თავის მხრივ გაახანგრძლივებს მის მოქმედებას.

კვლევის ძირითადი ნაწილი განხორციელდა გ. ელიავას სახელობის ბ.მ.ვ.ი-ს ზოგადი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიის და ფარმაცევტული წარმოება შპს „ნეოფარმი"-ს ბაზაზე. ასევე მცირე ნაწილი განხორიელდა ულმის საუნივერსიტეტო კლინიკაში; კარლის უნივერსიტეტის

მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტში (ჩეხეთი, პრაღა) და გრენობლის უნივერსიტეტის სტრუქტურული ბიოლოგიის ინსტიტუტში.

ჩატარებული კვლევის შედეგად მიღებული საწყწნი აბის უნიკალურობას წარმოადგენს ის, რომ შეიცავს მხოლოდ ბუნებრივი წარმოშობის ანტიმიკრობულ, ანტივირუსულ და ანტიფუნგალური აქტიურობის მქონე ნივთიერებებს რომლებსაც არ გააჩნიათ არასასურველი გვერდითი ეფექტები, განსხვავებით მისი ანალოგი პასტილებისა, რომლებიც დღეს ბაზარზეა ხელმისაწვდომი, ისინი აქტიური კომპონენტების სახით შეიცავენ დიქლორბენზილის სპირტს და ამილმეტაკრეზოლს; მეორეს მხრივ რესპირატორული ინფექციების გამომწვევების საწინააღმდეგო ფაგური კოქტეილი, მოქმედების ფართო სპექტრით.

კვლევის ძირითად მიზანს წარმოადგენდა ზედა სასუნთქი გზების ინფექციების გამომწვევი ბაქტერიული შტამების იდენტიფიცირება, მათი საწინააღმდეგო ფაგების გამოყოფა-შესწავლა და ფაგური კოქტეილის შემცველი პასტილების წარმოების ტექნოლოგიის შემუშავება, მათი კვლევა, ანტიბაქტერიული თერაპიული პოტენციალის დადგენა შემდგომში მათი სერიული წარმოების მიზნით.

კვლევის ძირითადი ამოცანები:

1. ზედა სასუნთქი გზების ინფექციების გამომწვევი ბაქტერიული შტამების იდენტიფიცირება;
2. ყველაზე ხშირად ცირკულირებადი ბაქტერიული შტამების (Staphylococus spp, Streptococcus spp, Enterococcus spp. და E.coli) შესწავლა (API სისტემით, სექვენირება) და უკვე არსებული კოლექციის გამდიდრება;
3. მიღებული ახალი ბაქტერიული შტამების რეზისტენტობის დადგენა;
4. მულტირეზისტენტული ბაქტერიული შტამების მიმართ ბაქტერიოფაგების გამოყოფა;
5. ახლად გამოყოფილი ფაგების ბიოლოგიური და გენეტიკური თვისებების შესწავლა (ადსორბცია, ერთჯერადი გამრავლების ციკლი, გამოსავლიანობა,

ფაგის გენომის ზომის დადგენა, რესტრიქციული ანალიზი, სექვენირება) მათი ვირულენტური ბუნების დადგენის მიზნით;

6. ახლად გამოყოფილ ფაგებზე სხვადასხვა გარემო ფაქტორების - PH, UV და ტემპერატურის ზემოქმედების შესწავლა;
7. ბიოფარმაცევტული კვლევების (ძირითადი, დამხმარე, შემავსებელი ნივთიერებებისა და ახლად გამოყოფილი ფაგების ურთიერთქმედების შესწავლა) საფუძველზე ფაგის შემცველი პასტილების რეცეპტურის განსაზღვრა;
8. ფაგის შემცველი პასტილების მიღების ტექნოლოგიის დამუშავება და ტექნოლოგიური სქემის შედგენა;
9. პასტილების კეთილ ხარისხოვნების მაჩვენებლების: ფაგების აქტიურობის, პასტილების სიმტკიცის, დაშლადობის და მზა პროდუქტიდან ფაგის გამოთავისუფლების კინეტიკის, განსაზღვრა;
10. საცდელ-საწარმოო სერიების წარმოება;
11. ფაგის შემცველი პასტილების ანტიმიკრობული დიაპაზონის და სტაბილურობის შესწავლა.

კვლევის ობიექტს წარმოადგენს ზედა სასუნთქი გზების ინფექციებს დროს გამოყოფილი მულტირეზისტენტული ბაქტერიული შტამების მიმართ აქტიური ფაგების გამოყოფა, მათი დახასიათება სამკურნალო-პროფილაქტიკურ პრეპარატში ჩართვის მიზნით.

კვლევის მეთოდები: კვლევის დროს ძირითადად გამოყენებულ იქნა რუტინული მიკრობიოლოგიური მეთოდება, ასევე დამატებით ჩართულ იქნა მოლეკულური ბიოლოგიის, ბიოქიმიური და ბიოფარმაცევტული კვლევის მეთოდები.

კვლევის სამეცნიერო სიახლე: ფაგის შემცველი პასტილის მიღების ახალი ტექნოლოგიის დამუშავება და მისი ბიოლოგიური პოტენციალის დადგენა. აღნიშნული პასტილის შემადგენლობაში იქნება მხოლოდ ბიოლოგიურად აქტიური კომპონენტები, ბაქტერიოფაგი და მცენარეული ექსტრაქტი, რისი საშუალებითაც პასტილებს ექნებათ როგორც

ანტიმიკრობული ისე ანტივირუსული და ანტიფუნგალური მოქმედება ყოველგვარი უარყოფითი გვერდითი ეფექტის გარეშე. ახალი ტექნოლოგიის წარმატებით დამუშავების და მიღებული სარწმუნო შედეგებით იგეგმება აღნიშნული პრეპარატის სერიული წარმოება. გამომდინარე პრეპარატის ინოვაციურობიდან მომზადდა საპატენტო განაცხადი.

მეცნიერული დებულებების, დასკვნებისა და პრაქტიკული რეკომენდაციების სარწმუნოობა. მიღებული შედეგების, დებულებებისა და დასკვნების სარწმუნოობა დასტურდება მათი მკაცრი დასაბუთებით, დასახული ამოცანების გადაწყვეტისათვის საჭირო ექსპერიმენტების ჩატარებით, მიღებული შედეგების ანალიზით, დამუშავებული კონცეპტუალური სქემებისა და დიაგრამების მსოფლიო მოწინავე ქვეყნების შესაბამის რეალურ პროცესებთან იდენტურობითა და მსგავსებით.

პრაქტიკული ღირებულება. სადისერტაციო ნაშრომის შედეგებს აქვს უდიდესი პრაქტიკული მნიშვნელობა. კვლევის შედეგად მიღებული ახალი ფაგის შემცველი პასტილები შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას პირის ღრუსა და ზედა სასუნთქი გზების დაავადებების სამკურნალო-პროფილაქტიკური მიზნით, როგორც დაავადების საწყის ეტაპზე ისე შორს წასული ფორმების შემთხვევაშიც.

ნაშრომის აპრობაცია. სადისერტაციო სამუშაოს ძირითადი დებულებები და შედეგები მისი დამუშავების სხვადასხვა ეტაპებზე მოხსენებულ და განხილულ იქნა საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენციებსა და სემინარებზე 9 თეზისის სახით. სწავლის მანძილზე დაფინანსებულია სამი ინდივიდუალური პროექტი: DAAD-რუსთაველის; ჩეხეთის განათლების, სპორტისა და ახალგაზრდობის სამინისტროს და ქართულ-ფრანგული ინსტიტუტის სტიპენდია. სწავლის განმავლობაში ავტორი იყო 4 საერთაშორისო სამეცნიერო პროექტის მონაწილე.

პუბლიკაციები. სადისერტაციო კვლევის ძირითად შედეგებზე გამოქვეყნებულია ოთხი ბეჭდვითი ნაშრომი, მათ შორის ორი რეცენზირებად ჟურნალში.

პირადი წვლილი. სადისერტაციო თემის მიხედვით გამოქვეყნებულია ავტორობით და თანაავტორობით რამდენიმე სტატია. ყველა შედეგი, რომელიც წარმოადგენს ამ ნაშრომის ძირითად შინაარს, მიღებულია ავტორის მიერ დამოუკიდებლად.

სადისერტაციო ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა. სადისერტაციო ნაშრომი შედგება შესავლისაგან, სამი თავის, დასკვნის, 19 სურათის, 13 დიაგრამის, 2 ცხრილისა და ლიტერატურის სიისგან 130 დასახელებით.

შინაარსი

შესავალში წარმოდგენილია სადისერტაციო თემის აქტუალობა, ის ძირითადი ამოცანები და პრობლემები, რომლებიც წარმოიშობა კვლევის

პროცესში. ჩამოყალიბებულია ნაშრომის მიზანი, კვლევის მეთოდები, მეცნიერული სიახლე და პრაქტიკული ღირებულება. მოცემულია ნაშრომის შინაარსის მოკლე ანოტაცია. დისერტაციის პირველ თავში გადმოცემულია ლიტერატურული წყაროების ზედა სასუნთქი გზების დაავადებებზე და მათ გამომწვევ მიკრო ორგანიზმებზე. ასევე სამკურნალო საშუალებებზე ანტიბიოტიკოთერაპიაზე და ფაგოთერაპიაზე, ბაქტერიოფაგის ზოგად დახასიათებაზე და ქართველების წვლილზე ფაგოთერაპიის როგორც სამკურნალო მიმართულების დაარსებასა და განვითარებაში.

მოცემული თავის ბოლოს გაკეთებულია დასვნა, რომ ანტიბიოტიკორეზისტენტობის მკვეთრად ზრდის ფონზე მწვავედ დგას მკურნალობის ალტერნატიული გზების ძიება. საუკუნოვანი ისტორიის, გვერდითი ეფექტების არ არსებობის და ახალი აქტიური ფაგების გამოყოფის სიმარტივის გათვალისწინებით ფაგოთერაპიას რეზისტენტობასთან ბრძოლის საქმეში კონკურენტი არ ჰყავს.

მეორე თავში განხილულია სამუშაოს დროს გამოყენებული მეთოდები. მესამე თავი დათმობილია მიღებული შედეგების ანალიზს.

მიღებული შედეგების ანალიზს. კვლევის მანძილზე 2013-2015 წლებში ოთხი სტომატოლოგიური კლინიკებიდან და სადიაგნოსტიკო ცენტრიდან „დიაგნოზი-90“ მიღებული იქნა ზედა სასუნთქი გზების სხვადასხვა ინფექციების დროს მიღებული 103 საკვლევი მასალა, საიდანაც გამოიყო *Staphylococus* - 26, *Streptococcus* - 41, *Enterococcus* -25 და *E.coli* – 14 ბაქტერიული შტამი. მიღებული ნიმუშების მიკრობიოლოგიური შესწავლა განხორციელდა გ.ელიავას ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის ზოგადი მიკრობიოლოგიის ლაბორატორიაში. ასევე მივიღეთ 11 *GAS* და 9 *GBS* ჯგუფის ბაქტერიული შტამი გერმანიიდან ულმის საუნივერსიტეტო კლინიკის ბანკიდან.

მიღებული სინჯების პირველად იდენტიფიკაციას ვახდენდით სტანდარტული მიკრობიოლოგიური მეთოდებით საიდენტიფიკაციო ნიადაგზე გათესვით, გრამის წესით შეღებვით, მიკროსკოპში

დათვალიერებით, აგლუტინაციის მეთოდით, API 20 strep, API staph, API 20NE. შტამების გენეტიკური გამოკვლევა განხორციელდა 16s RNA პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქციის საშუალებით. 4 შტამის შემთხვევაში *Staphylococcus aureus 106, Streprococcus pyogenes 1, Enterococus faecium 74* და *E.coli-108*-ს მოვახდინეთ PCR პროდუქტის სექვენსი. მიღებული შედეგები სახეობის დასადგენად გადავამოწმეთ BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (nih.gov) ვებ-საიტზე. აღნიშნული კვლევა ჩავატარეთ ულმის საუნივერსიტეტო კლინიკაში.

შევისწავლეთ UV სხივების გავლენა ბაქტერიულ შტამებზე. კვლევას საფუძვლად ედო თეორია, რომლის მიხედვითაც CRISPR-cas არის ბაქტერიული შტამისთვის იმუნიტეტი რისი წყალობთაც შტამს შეუძლია გადარჩეს ექსტრემალურ პირობებში. კვლევისთვის გამოვიყენეთ 244 nm UV (მოკლე სიგრძის მქონე სხივი). შედეგად მივიღეთ, რომ *Streprococcus pyogenes 1, Enterococus faecium 74 შტამზე* UV სხივები გავლენას ახდენდა 30 წამში; *Staphylococcus aureus 106* შტამზე - 20 წამში, ხოლო *E.coli-108* ბაქტერიულ შტამზე - 50 წამში. მიღებული შედეგებით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ Streptococcus Pyogenes ბაქტერიულ შტამში არის CRISPR-cas 9 ცილა. აღნიშნული ბაქტერიას აძლებს უნარს გადარჩეს ექსტრემალურ პირობებში, რაც განაპირობებს მის სავარაუდო რეზისტენტობას. კვლევა ჩატარდა ულმის საუნივერსიტეტო კლინიკაში.

ვინაიდან *E.coli-108* შტამს ქონდა უნარი გადარჩენილიყო ექსტრემალურ პირობებში გენეტიკური კვლევა გავაგრძელეთ *E.coli-108* ბაქტერიული შტამის მაგალითზე. მოვახდინეთ მთლიანი გენომის სექვენსი მასში არსებული ცილების ზომის დადგენის და კვლევის შემდგომი გაგრძელების მიზნით. ასევე, გადაწყდა აღნიშნული შტამის ქიმიური ტრანსფრმაცია, რათა გვენახა ჰქონდა თუ არა რეზისტენტობის გენი. ამისათვის მოვახდინეთ შტამის გენომის დაჭრა, ფრაგმენტის ტრანსფორმაცია კომპეტენტ უჯრედში და შემდგომ ტრანსფორმაციული ფრაგმენტის სექვენირება.

სექვენსისთვის მასალა გავგზავნეთ კომპანიაში GATC (Biotech GmbH, Konstanz) კლონის გენომის სექვენირებით და შემდგომი ანალიზით დადგინდა, რომ საკვლევი შტამი იდენტიფიცირდა, როგორც Escherichia coli O176:H45, არის Verocytotoxin მაპროდუცირებელი შტამი. გამომდინარე იქედან, რომ ჩვენი საბოლოო პროდუქტის გამოყენებას ვგეგმავდით სამკურნალო-პროფილაქტიკური გამოყენებისთვის, აღნიშნული შტამი ჩავანაცვლეთ სერიული *E.coli-5* შტამით.

კვლევა ჩატარებულია ულმის საუნივერსიტეტი კლინიკაში და ჩეხეთში, მიკრობიოლოგიის ინსტიტუტში.

შესწავლილ იქნა ახლადგამოყოფილი შტამების მგრძნობელობა რიგი ანტიბიოტიკების მიმართ, როგორებიცაა: ampicillin, amoxicilin, gentamicin, ciprofloxacin, rifampicin, Sulfamethoxazole. დადგინდა, რომ შტამების 73% იყო ანტიბიოტიკორეზისტენტული, ხოლო 27% - სენსიტიური. 103 პათოგენური ბაქტერიული შტამის (მგრძნობელობა ლაბორატორიაში არსებულ და სერიული წარმოების ბაქტერიოფაგების მიმართ იქნა შესწავლილი. 42% პათოგენური ბაქტერიული შტამი იყო რეზისტენტული, ხოლო 58% სენსიტიური არსებული ფაგების მიმართ.

მულტირეზისტენტული ბაქტერიული შტამების მიმართ გამოყოფილ იქნა 16 სპეციფიკური ბაქტერიოფაგი. მიღებული ფილტრატების შემოწმება ხდებოდა Spot tset - ის მეთოდით. დაბალ სენსიტიური ფაგები იქნა ადაპტირებული ახლად გამოყოფილ შტამებზე. საბოლოოდ კვლევის გასაგრძელებლად შეირჩა ოთხი ახლად გამოყოფილი ფაგი. ესენია: *vB_GEC_SP_M_1, vB_GEC_Ent_f_74, vB_GEC_Stap_106, vB_GEC_Ec_108;*

ფაგი *vB_GEC_SP_M_1* გამოყოფილია 2019 წელს მდინარე მტკვრის წყლიდან. პატრონ ბაქტერიულ შტამს წარმოადეგნს Streptococcus Pyogenes

ფაგი *vB_GEC_Ent_f_74* გამოყოფილია 2020 წელს მდინარე მტკვრის და შავი ზღვის წყლიდან. პატრონ ბაქტერიულ შტამს წარმოადეგნს Enterococcus faecalis.

ფაგი *vB_GEC_Stap_106* გამოყოფილია 2018 წელს მდინარე მტკვრის წყლიდან. პატრონ ბაქტერიულ შტამს წარმოადეგნს Staphylococcus aureus.

ფაგი *vB_GEC_Ec_108* გამოყოფილია 2017 წელს მდინარე მტკვრის წყლიდან. პატრონ ბაქტერიულ შტამს წარმოადეგნს E-coli.

შერჩეული ფაგების ლიზისური აქტივობის მოქმედების შესამოწმებლად გამოვიყენეთ 118 კლინიკური შტამი. ჩვენს მიერ შერჩეული ფაგები ხასიათდებიან მაღალი (89%) აქტიურობით.

შევისწავლეთ კვლევისთვის შერჩეული ფაგების მორფოლოგია:

ფაგი *vB_GEC_Ec_108* დამახასიათებელია დიდი ზომის ნათელი კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპიით დადგინდა, რომ მიეკუთვნება Siphoviridae-ს ოჯახს, ზომებით თავი - 135x64,5ნმ, კუდი - 170,5x17,5ნმ. მისი ტიტრია 1x 10^{10}.

ფაგი *vB_GEC_SP_M_1* დამახასიათებელია წვრილი ნათელი კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპიით დადგინდა, რომ მიეკუთვნება Siphoviridae-ს ოჯახს, ზომებით თავი - 111x55ნმ; კუდი 145x10ნმ. ტიტრია 1x 10^{8}

ფაგი *vB_GEC_Stap_106* დამახასიათებელია წვრილი, ნათელი კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპიით დადგინდა, რომ მიეკუთვნება Siphoviridae-ს ოჯახს, ზომებით თავი - 77,5ნმ, კუდი - 236 x 16,5ნმ. ტიტრია 1x 10^{10}.

ფაგი *vB_GEC_Ent_f_201* დამახასიათებელია საშუალო ზომის ნათელი კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპიით დადგინდა, რომ მიეკუთვნება Siphoviridae-ს ოჯახს, ზომებით თავი - 110x50 ნმ, კუდი – 150 x 10 ნმ. ტიტრია 1x 10^{9}

ბაქტერიოფაგების დახასიათების მიზნით შესწავლილ და დადგენილ იქნა ოთხი ახლად გამოყოფილი ფაგის ადსორბციის სიჩქარე და მათი კონსტანტა. ბაქტერიოფაგების პატრონ-უჯრედზე ადსორბციის პროცესის შესწავლის დროს განსაზღვრულ იქნა: ა) არაადსორბირებული ფაგის რაოდენობა და ბ) ფაგით ინფიცირებული ბაქტერიების რიცხვი

დადგენილ იქნა, რომ შერჩეული ფაგები ხასიათდებიან შემდეგი ადსორბციის პერიოდებით: *vB_GEC_Str.pyog_M_1* ადსორბციის პერიოდი 3 წთ; *vB_GEC_Stap_106* ადსორბციის პერიოდი 12 წთ; *vB_GEC_e-coli _S_108* ადსორბციის პერიოდი 5 წთ; *vB_GEC_Ent._f_ 74* ადსორბციის პერიოდი 10 წთ. ფაგების ადსორბციის პერიოდი ვარირებს 3-12 წთ ინტერვალში. ბაქტერიოფაგის გამრავლების პირველი ეტაპია ბაქტერიოფაგის ბაქტერიის კედელზე ადსორბცია, აღნიშნული მაჩვენებლის შესწავლა მნიშვნელოვანი იყო შემდგომში ფაგების გამრავლების პროცესის რეგულაციისათვის.

შევისწავლეთ ფაგის დამასიათებელი - ერთჯერადი გამრავლების ციკლი. შედეგად დადგინდა, რომ *vB_GEC_Ent._f_ 74* ფაგს აქვს ხანმოკლე ლატენტური პერიოდი 35 წთ და გამოსავლიანობა 150 ფაგური ნაწილაკი.

vB_GEC_e-coli _S_108 ფაგის ლატენტური პერიოდია 110 წთ და გამოსავლიანობა 132 ფაგური ნაწილაკი.

vB_GEC_Staph. _106 ფაგის ლატენტური პერიოდია 80 წთ და გამოსავლიანობა 132 ფაგური ნაწილაკი.

ბაქტერიოფაგზე სხვადასხვა გარემო ფაქტორების გავლენის შესწავლამ აჩვენა, რომ ფაგები არ ინაქტივირდებოდნენ pH 6,0 – 8,0 ფარგლებში. ფაგები *vB_GEC_Str.pyog_M_1; vB_GEC_Ent._f_ 74* ყველაზე გამძლეები აღმოჩნდნენ pH-ის მიმართ. არ ინაქტივირდებიან pH 5,0 – 12,0 ფარგლებში.

280 ნმ სიგრძის მქონე UV სხივის ზემოქმედების შედეგად ფაგი არ ინაქტივირდა. 365 ნმ სიგრძის მქონე UV სხივის 75 წმ. ზემოქმედების შედეგად ბაქტერიოფაგის ნეგატიური კოლონიების ზომაში ზრდა შევნიშნეთ, თუმცა შემდგომი პასირების შემდეგ ფაგების ნეგატიური კოლონები მივიღეთ საწყის ზომაში.

სხვადასხვა ტემპერატურის თანაობისას ფაგის სტაბილურობის ტესტმა აჩვენა, რომ *vB_GEC_Staph._106* ყველაზე მგრძნობიარე იყო ტემპერატურის მიმართ 60^0 C-ზე 10 წთ განმავლობაში ტიტრმა დაიკლო 3 ლოგარითმით. *vB_GEC_Str.pyog_M_1; vB_GEC_Ent._f_ 74* ყველაზე გამძლე

ფაგები აღმოჩნდნენ ტემპერატურული გავლენის მიმართ. ისინი არ ინაქტივირდებოდნენ 70^0 C-ზე 10 წთ განმავლობაში, ხოლო შემდეგ იკლებდა 2 დანაყოფით. *vB_GEC_e-coli _S_108* 65^0 C-ზე 9 წთ განმავლობაში, ხოლო შემდეგ კლებდა 2 დამაყოფით.

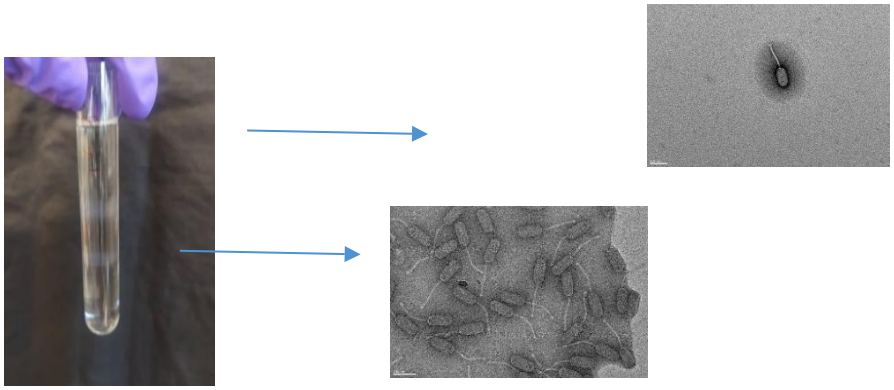
შემდგომ ეტაპზე ფაგური ლიზატები გავათავისუფლეთ საკვები ნიადაგის და ბაქტერიის ნაწილაკებისაგან. ექსპერიმენტს ვიწყებთ ბაქტერიის გამრავლებით 500მლ LB-ში. ვამატებთ ბაქტერიოფაგს MOI 10^{-3}. ვაკვირდებით ბაქტერიული შტამის ზრდას.

MOI გამოითვლება ფორმულით: MOI = ფაგების რაოდენობა/ ბაქტერიების რაოდენობა.

განხილვის შედეგად მივედით დასვნამდე, რომ თხევადი ბაქტერიოფაგის დამატება (10-15 მლ) ზედმეტად აზავებდა ბაქტერიულ კულტურას რაც თავის მხრივ იწვევდა ბაქტერიოფაგის მექანიკურ დაზიანებას. ამიტომ გადავწყვიტეთ 3 მლ LB-ში ამოგვეღო ფაგის 10 ნეგატიური კოლონია 1,5 სთ 37^0C-ზე ინკუბაციის შემდეგ OD-ს შესაბამის მაჩვენებელზე დაგვემატებინა ბაქტერიული კულტურისთვის. ბაქტერიოფაგის გასუფთავების ამ მეთოდით უკეთესი შედეგი მივიღეთ.

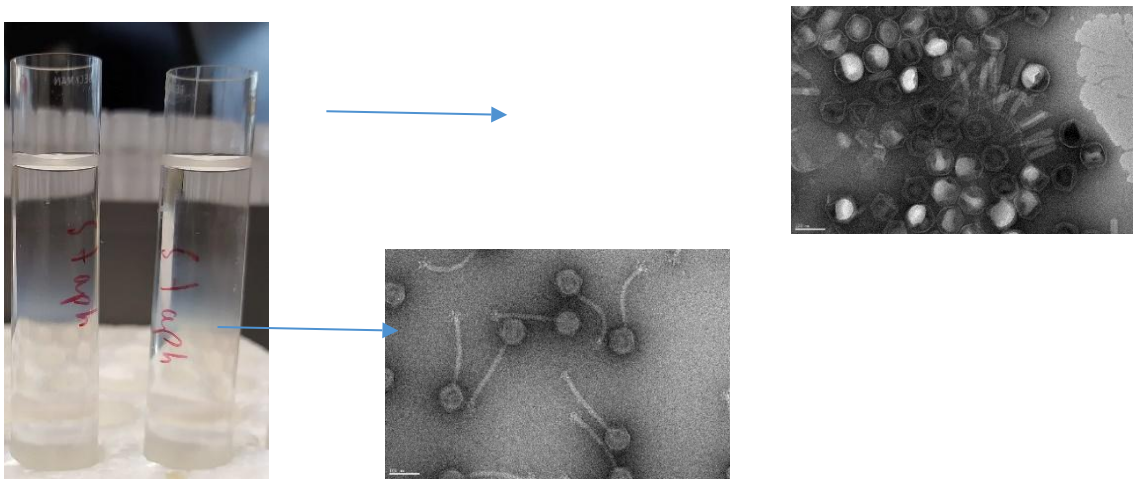
ბაქტერიოფაგების გასუფთავების შემდგომ ფაგები მოვათავსეთ ე.წ „პროტეინის მემბრანაში'' და დიალიზისთვის ჩავდეთ ფაგურ ბუფერში. გავტოვეთ მთელი ღამით. დილით შევცვალეთ ფაგური ბუფერი და ფაგი დავაყოვნეთ მასში 1 სთ. დიალიზის შედეგად ფაგი გასუფთავდა ცდის დროს გამოყენებული სხვადასხვა ქიმიური რეაქტივებისგან (ფაგისთვის განსაკუთრებით საზიანია ცეზიუმ ქრომიდი). ამოვიღეთ ყველა ფენა ცალ-ცალკე სტერილურ სინჯარაში.

vB_GEC_e-coli _S_108 ბაქტერიოფაგის გასუფთავებისას მივიღეთ ორი ფენა



ზედა ფენა: Siphophages, თავი – 135x64,5 ნმ, კუდი – 170,5x17,5 ნმ
ტიტრი : $1x10^4$;
ქვედა ფენა: Siphophages, თავი – 135x64,5 ნმ, კუდი – 170,5x17,5 ნმ
ტიტრი: $1x10^9$;

vB_GEC_Staph _106 ბაქტერიოფაგის გასუფთავებისას ასევე მივიღეთ ორი ფენა:

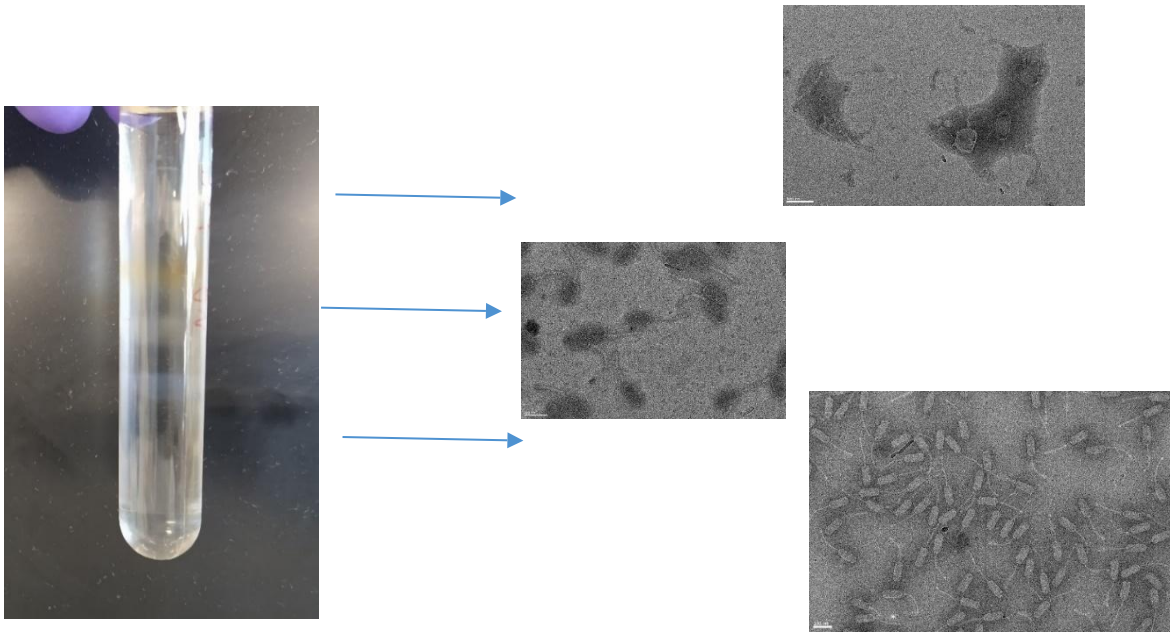


ზედა ფენა: empty siphophage; თავი 94 ნმ; კუდი 181 ნმ

ქვედა ფენა: siphophage; თავი 77,5ნმ, კუდი 236 x 16,5 ნმ

ტიტრი: $1x10^{10}$

vB_GEC_Ent._f_ 74 ბაქტერიოფაგის გასუფთავებისას მივიღეთ სამი ფენა:



ზედა ფენა: Siphophages, თავი - 114x57 ნმ, კუდი – 150x7 ნმ

ტიტრი: $1x10^8$;

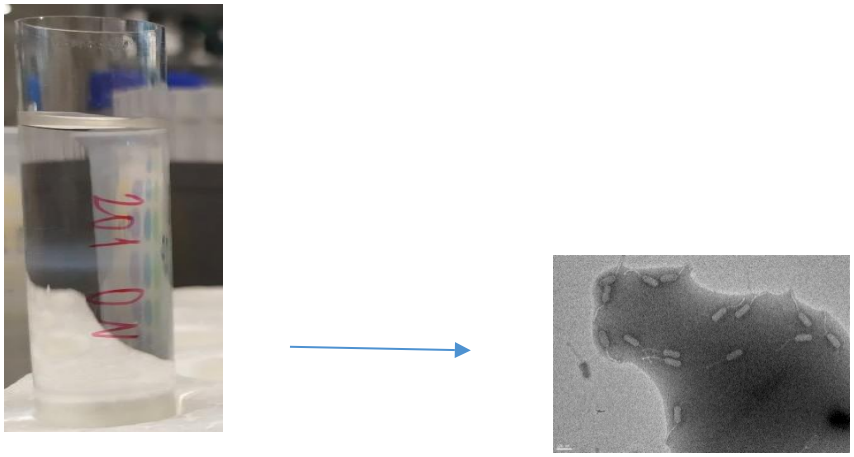
შუა ფენა: Siphophages, თავი – 110,5 ნმ; კუდი – 147 ნმ

ტიტრი: $1x10^8$;

ქვედა ფენა: Siphophages, თავი - 102,5 ნმ, კუდი - 152,5 ნმ

ტიტრი: $1x10^9$;

vB_GEC_Str.pyog_M_201 ბაქტერიოფაგის გასუფთავებისას მივიღეთ ერთი ფენა

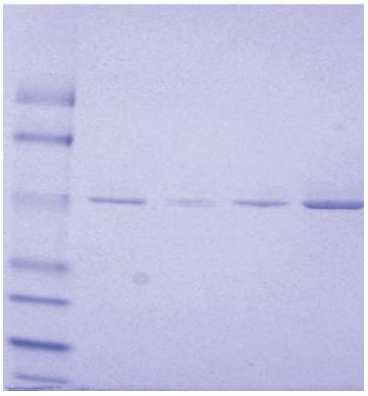


მიღებული ფაგი: Siphophages, თავი – 110x50 ნმ, კუდი – 150 x 10 ნმ

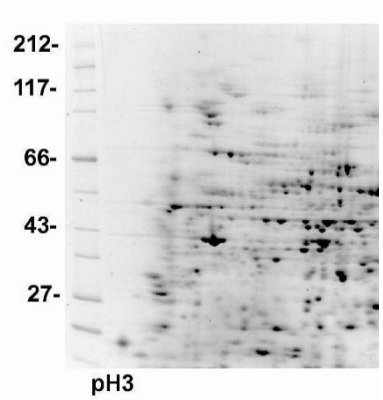
ტიტრი: $1x10^7$;

ფაგი უფრო მაღალ ტიტრში და დაუზიანებელი გვხვდებოდა ქვედა ფენაში, რაც ლოგიკურია მეტი რაოდენობით/მთლიანი ფაგი უფრო მძიმეა, ვიდრე ცოტა რაოდენობით ან ფაგის მხოლოდ თავი და კუდი. კვლევა ჩატარდა გრენობლის უნივერსიტეტის სტრუქტურული ბიოლოგიის ინსტიტუტში.

ბაქტერიოფაგიდან ცილის გამოყოფა. კვლევის შემდგომ ეტაპზე გასუფთავებული ოთხივე გასუფთავებული ფაგებიდან გამოვყავით ცილა მისი ზომის დადგენის მიზნით. ცილის ზომის დადგენისათვის გამოვიყენეთ პოლიაკრილამიდის ვერტიკალური გელი. ცილა გამოვყავით ვაშინგტონის უნივერსიტეტის პროტოკოლის მიხედვით, მივიღეთ ე.წ. „ფაგის მოჩვენება“. ელექტროფორეზის დროს ცილების გამოყოფას საფუძვლად უდევს მათი განსხვავებული ზომა, რომელიც განსხვავებულად მიგრირებს პულსირებად გელში. ექსპერიმენტის შედეგად ოთხივე შემთხვევაში მივიღეთ ერთი ზომის 66 kDa (მოლუკულური მასა) მქონე ცილა. კვლევა ჩატარდა გრენობლის უნივერსიტეტის სტრუქტურული ბიოლოგიის ინსტიტუტში.



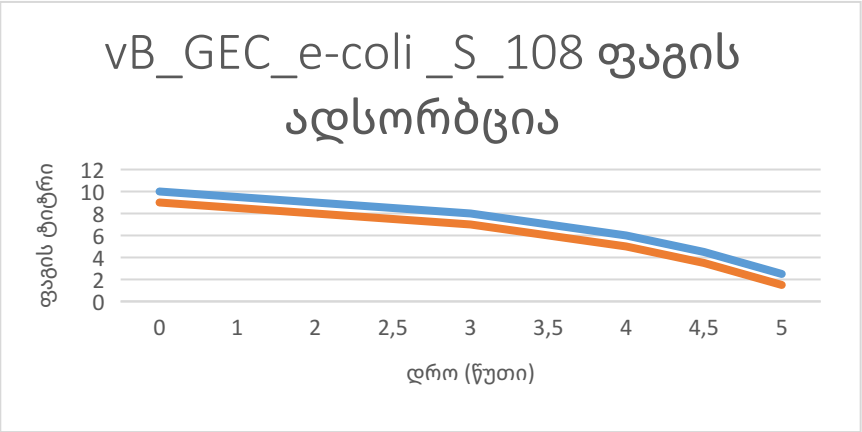
სურათი 1. ფაგებიდან გამოყოფილი ცილის ზომა



სურათი 2: მოლეკულური მასის ზომის მარკერი

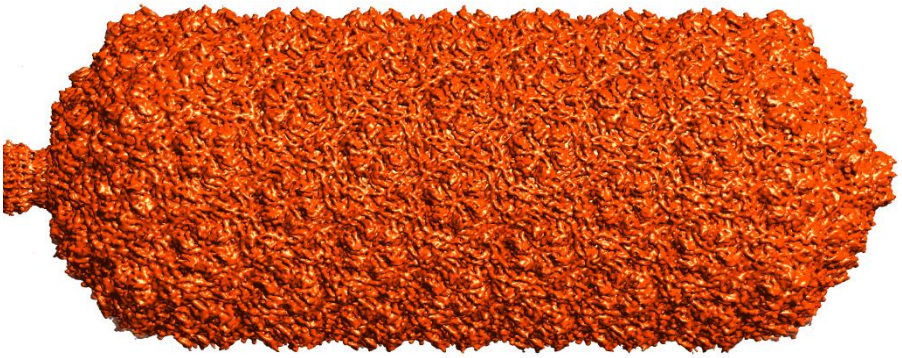
გასუფთავებული ფაგის ადსორბციის კონსტანტას განსაზღვრა. ექსპერიმენტი ჩავატარეთ გასუფთავებამდე და გასუფთავებულ ფაგებზე იმ მიზნით, რომ დაგვედგინა საკვებ ნიადაგში არსებული ნიადაგის ცილები და ბაქტერიულ შტამში არსებული ცილები ხომ არ ახდენდა ბაქტერიოფაგის ადსორბციის უნარის დათრგუნვას. ექსპერიმენტი ჩავატარეთ *vB_GEC_e-coli _S_108* ფაგზე.

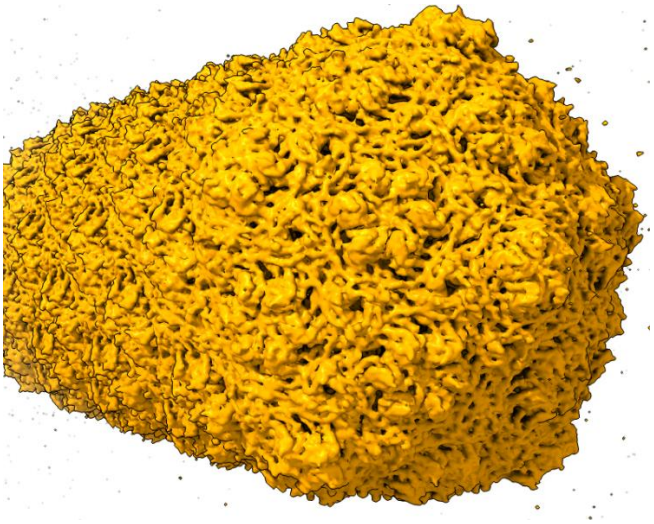
შედეგად მივიღეთ, რომ ორივე შემთხვევაში ფაგი ბაქტერიის უჯრედზე ადსორბირდა 5 წთ-ში და ადსორბირდა ფაგების 95%.



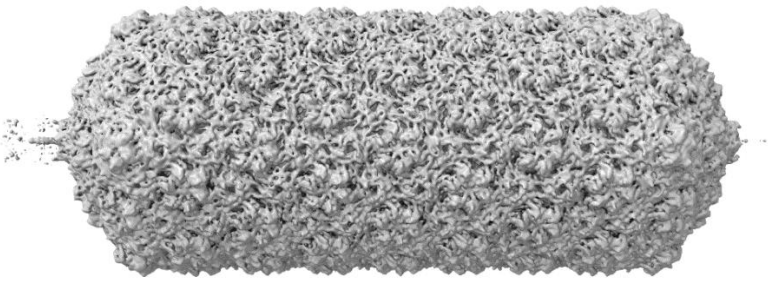
დიაგრამა 1: vB_GEC_e-coli _S_108 ადსორბცია

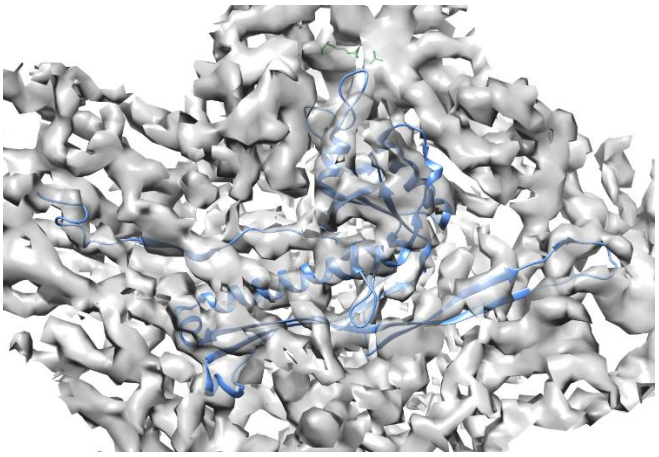
ბაქტერიოფაგის სტრუქტურული მიკროსკოპია. ბაქტერიოფაგების *vB_GEC_e-coli_S_108* და *vB_GEC_Str.pyog_M_201* მორფოლოგიის შესწავლისას შევნიშნეთ, რომ ორივე ფაგს ახასიათებდა უჩვეულოდ მოგრძო თავი. გადავწყვიტეთ გადაგვეღო აღნიშნული ბაქტერიოფაგების სტრუქტურული სურათი და შეგვესწავლა მასში არსებული ცილის სივრცული სტრუქტურა.





სურათი 3: vB_GEC_e-coli _S_108 ფაგის სტრუქტურული სურათი





სურათი 4: vB_GEC_Str.pyog_M_201 ფაგის სტრუქტურული სურათი

მონიშნული ფიგურა fit-monoHK97 გვიჩვენებს, რომ ცილას, რომელიც ქმნის კაპსიდს აქვს იგივე ხვეულები როგორც ყველა caudovirale ფაგის შემთხვევაში. თუმცა ორგანიზებულია განსხვავებულად, რაც თავის მოგრძო ლაფსიდს განაპირობებს. მოცემული შემთხვევა საკმაოდ იშვიათია. აღნიშნული მიმართულებით კვლევას კვლავ ვაგრძელებთ. კვლევა ჩატარდა გრრენობლის უნივერსიტეტის სტრუქტურული ბიოლოგიის ინსტიტუტში.

პასტილებში შემავალი ნივთიერებების ბაქტერიოფაგებზე გავლენის დადგენა. თავდაპირველად მოვიძიეთ მასალა იმ კომპონენტებზე, რომლებზეც შესაძლებელი იყო დაგვემატებინა პასტილისთვის. საბოლოოდ პროტოტიპად შევარჩიეთ უკვე გაყიდვაში არსებული, შპს“ნეოფარმის“ მიერ წარმოებული საწუწნი აბები. არჩევანი შევაჩერეთ შემდეგზე ინგრედიენტებზე: იზომალტი; გომიზი; მცენარეული ზეთი; ალუბლის ექსტრაქტი.

რეცეპტურის შემუშავების მიზნით და იმის განსაზღვრისთვის თუ რა კომპონენტები უნდა დაგვემატებინა პასტილებისათვის და შემდეგ რა პირობებში უნდა შეგვენახა შევისწავლეთ ფაგების და პასტილებში შემავალი სხვადასხვა კომპონენტების ურთიერთქმედება. რადგან 20^0C დან 100^0Cმდე ქიმიური პროცესი 250-ჯერ ჩქარდება ექსპერიმენტისთვის გამოვიყენეთ სხვადასხვა გარემო: 1. მაცივარი 4₀C; 2. ოთახის ტემპერატურა 25₀C;

თერმოსტატი 37₀ C.

შედეგად მივიღეთ, რომ ლიმონმჟავა 37^0 C პირობებში მკვეთრად, 7 ლოგარითმით ამცირებდა ფაგის ტიტრს. ეს მოსალოდნელიც იყო, რადგან ცნობილია ფაგი ყველაზე მდგრადები არიან pH 5,0 – 8,0 ზღვრებში. ფაგის ტიტრს ასევე 3 ლოგარითმით ამცირებდა გომიზი, რომელიც გამოიყენება საწუწნი აბის გამლღვალი მასის შესაწებებლად. პასტილების კომპონენტების მიმართ ყველაზე მგრძნობიარე აღმოჩნდა სტაფილოკოკური ფაგი.

პასტილების საწარმოო ხაზში ჩვენ ექსპერიმენტს ვიწყებდით შემრევი მაგიდიდან. ექსპერიმენტისთვის ვიყენებდით მცირე რაოდენობით იზომალტს, რის გამოც რეაქტორი არ გვესაჭიროებოდა. იზომალტს ვალღობდით 160₀C-ზე, გადაგვქონდა გამაგრილებელ მაგიდაზე, სადაც 60₀C-მდე გაგრილებისას ვამატებდით მცენარეულ ექსტრაქტს და ფაგურ კოქტეილს.

ტექნოლოგიური სქემის შედგენისას წარმოიშვა სხვადასხვა პრობლემა, მათგან გამოვყოფდი რამდენიმეს:

I - პირველი საცდელი სერიის შემადგენლობა:

იზომალტი - 97,7%

ალუბლის ექსტრაქტი - 2%

ფაგური კოქტეილი - 0,3%

წარმოების პროცესში იზომალტის მასა მალევე გამყარდა ფაგის დამატების შემდეგ. ვერ მოხერხდა აბის ფორმის მიცემა. ვივარაუდეთ, რომ პრობლემა გამოწვეული იყო საცდელ პასტილში გომიზის არ არსებობის გამო. გომიზი უზრუნველყოფს პასტილში არსებული ნივთიერებების შეწებებას, გადავწყვიტეთ გომიზი ჩაგვენაცვლებინა ჟელატინით.

II - შემადგენლობა:

იზომალტი - 92.7%

ალუბლის ექსტრაქტი - 2%

ჟელატინი - 5%

ფაგური კოქტეილი - 0.3%

ნარევმა გაიკეთა ბუშტუკები, გაგრილებას დასჭირდა 30 წთ. მასა გამოვიდა ჟელიბონის მსგავსი წებოვანი რის გამოც ფორმის მიმცემ დამადგარს მიეკრო და ვერ გაიარა მასში. გადავწყვიტეთ, მომავალი სერიებისთვის ჟელატინი აგვეღო ნაკლები პროცენტულობით.

III - შემადგენლობა:

ოზიმალტი - 95.5%;

ალუბლის ექსტრაქტი - 1,5%

ჟელატინი - 2%

ფაგური კოქტეილი - 1%

2% ჟელატინის არსებობის შემთხვევაშიც მასა გამოვიდა წებოვანი. ბოლომდე გაიარა ფორმის მიმცემ დამადგარში, თუმცა ვერ მოხერხდა მისი ე.წ „გელიოტინაზე“ დაჭრა.

II II -შემადგენლობა:

ოზიმალტი - 94.6%

ალუბლის ექსტრაქტი - 1,5%;

ჟელატინი - 0.9%

ფაგური კოქტეილი - 3%

0.9% ჟელატინის აღების შემთხვევაში მასა მალე გაგრილდა. კარგად შეერია ფაგი. საწარმოო ხაზში გავლა შეძლო. მაგრამ საბოლოო პასტილები ოდნავ წებოვანი გამოვიდა და შრობისას მიეკრო ერთმანეთს.

იმის დასადგენად, თუ რა რაოდენობის და რომელ ტემპერატურაზე ფაგის დამატება მოგვცემდა საუკეთესო შემდეგს. ვაწარმოეთ მცირე ზომის რამდენიმე ლაბორატორიული სერია. საუკეთესო შედეგი მივიღეთ, 60-65^{0}C-ზე 0,04 მლ ფაგის 1 პასტილზე (2გრ) დამატებით.

საუკეთესო აქტივობის მქონე პასტილის შემადგენლობა შემადგენლობა:

იზომალტი - 97.1%

ალუბლის ექსტრაქტი - 0.5%

ჟელატინი - 0.4%

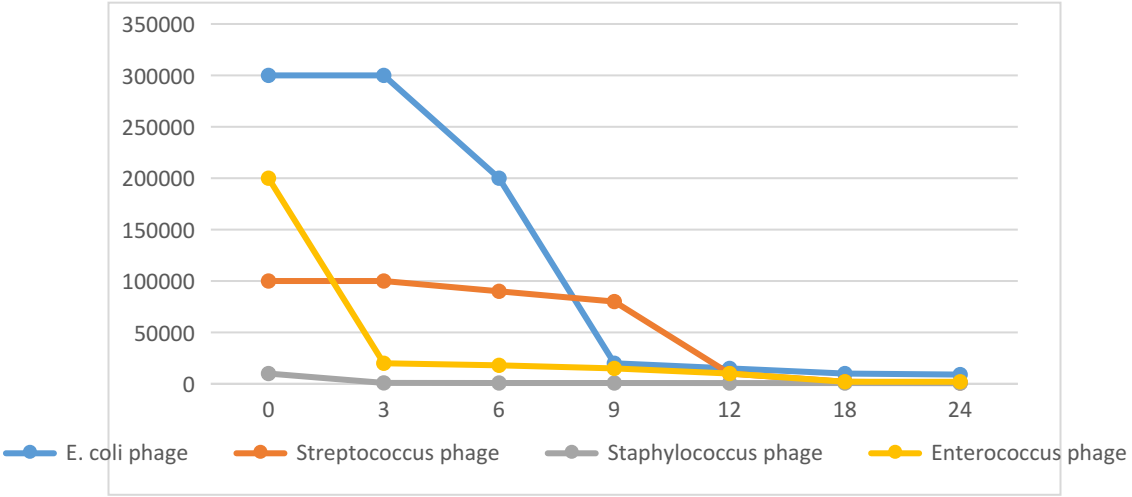
ფაგური კოქტეილი - 2%

პასტილში ფაგური კოქტეილის ტიტრი 10^4-10^5

ფაგის შემცველი პასტილის მიღების ტექნოლოგია დავამუშავეთ შპს „ნეოფარმის“ ბაზაზე.

პასტილის მიღების ტექნოლოგიის დამუშავების შემმდგომ შევისწავლეთ პასტილიდან ფაგის გამოსვლის კინეტიკა. ფაგი პასტილიდან სრულად თავისუფლდება 15 წთ-ში.

განვსაზღვრეთ ფაგის აქტივობა პასტილში დროის ხანგრძლივ მონაკვეთში (24 თვის განმავლობაში). ფაგები არ ინაქტივირდებიან 2 წლის განმავლობაში.

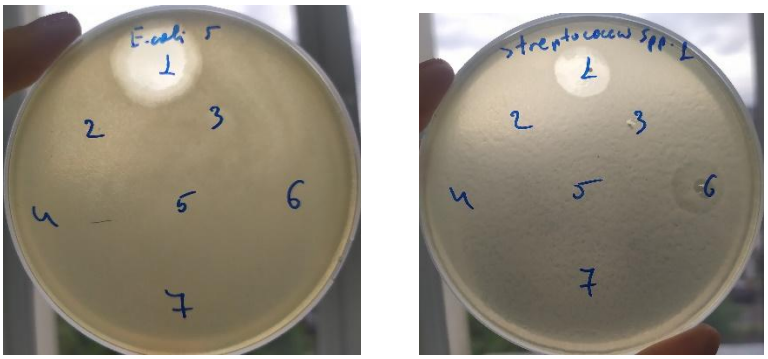


დიაგრამა 2: ფაგის აქტივობა საწუწნ აბებში დროის ხანგრძლის პერიოდში

შედეგად მივიღეთ, რომ პასტილში ფაგური კოქტეილი თერაპიულ დოზას - 10^4 ტიტრს ორი წლის განმავლობაში ინარჩუნებდა.

შევისწავლეთ ჩვენს მიერ მიღებული პასტილში და სხვადასხვა კომერციული პასტილებში (1. საწუწნი აბი+ფაგი; 2.Liv-Angin; 3. Tetesept; 4. ISLA; 5. Strepsilles; 6. Doritricin; 7. Salvia+Vit C) ანტიმიკრობული აქტივობა 28 კლინიკურ შტამზე. შედეგად მივიღეთ, რომ ჩვენს მიერ მიღებული აბის აქტივობა განისაზღვრებოდა 99% პროცენტით. ყველა პასტილის მიმართ გარდა დორიტრიცინისა ბაქტერილი შტამები ავლენდა 100%-იან რეზისტენტობას. დორიტრიცინის შემთხვევაში შტამები რეზისტენტული

იყო მხოლოდ 20%-ში. ეს მოვლენა აიხსნება დორიტრიცინში ანტიბიოტიკის არსებობით.



სურათი 6: სხვადასხვა საწუწნი აბის აქტივობა

მიღებული შედეგებით შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ სადისერტაციო შრომის მთავარი მიზანი ფაგის შემცველი პასტილის მიღების ტექნოლოგის დამუშავება და მისი ბიოლოგიური პოტენციალის დადგენა წარმატებით განხორციელდა.

სურათი 7: ფაგის შემცველი საწუწნი აბი

დასკვნა

- შესწავლილია ზედა სასუნთქი გზების დაავადებების დროს ყველაზე ხშირად ცირკულირებადი ბაქტერიული შტამები (Streptococcus spp. Enterococcus spp. Staphylococcus soo, E-coli) და შექმნილია ახალი კლინიკური შტამების ბანკი.
- დადგინდა ზედა სასუნთქი გზების გამომწვევი ბაქტერიების ანტიბიოტიკების მიმართ მაღალი რეზისტენტობა (65-72%).
- მულტირეზისტენტული ბაქტერიული შტამების მიმართ გამოყოფილი იქნა 16 აქტიური ბაქტერიოფაგი სხვადასხვა ჩამდინარე წყლიდან.
- განსაზღვრულ იქნა ახლად გამოყოფილი ბაქტერიოფაგების მოქმედების სპექტრი. რის შედეგადაც საბოლოოდ სამკურნალოდ და კვლევის გასაგრძელებლად შეირჩა 4 ფაგი. მათგან 2 vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1 ახლად გამოყოფილი, ხოლო 2 vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 საწარმოო ფაგი.
- შესწავლილ და დახასიათებულ იქნა შერჩეული ფაგების vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ბიოლოგიური მახასიათებლები. აღნიშნული ფაგები გამოირჩეოდნენ ადსორბციის მოკლე დროით (3-12 წთ) და მაღალი გამოსავლიანობით (95-120 ფნ);
- შესწავლილ იქნა ის გარემო-პირობები, რომელშიც vB_Ent_f_201; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ფაგები სიცოცხლის უნარიანები იყვნენ. შედეგად მივიღეთ, რომ 10 წთ ფაგები გამძლეები იყვნენ 65^0C-ზე.
- შევისწავლეთ ულტრაიისფერი სხივების vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ბაქტერიოფაგებზე გავლენა. მოკლე სიგრძის სხივი არ აზიანებდა

ბაქტერიოფაგებს. გრძელი სხივი ფაგებს უცვლიდა ნეგატიული კოლონიის მორფოლოგიას, შეინიშნებოდა კოლონიების ზომაში ზრდა, თუმცა შემდეგი პასირებით ვიღებდით იგივე ზომის ნეგატიურ კოლონიებს.

- ფაგების მორფოლოგიის და მასში არსებული ცილების შესწავლის მიზნით vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ფაგები გავასუფთავეთ საკვები ნიადაგის და ბაქტერიული უჯრედის ნარჩენებისგან.
- დადგინდა vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ბაქტერიოფაგებში არსებული ცილის ზომა - 66 მოლეკულური მასა.
- შევისწავლეთ vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108 ფაგების თავის სტრუქტურა და დავასკვენით, რომ მათში არსებული fit-monoHK97 ცილის სივრცული კონფიგურაცია განსაზღვრავდა ფაგების უჩვეულოდ მოგრძო თავს.
- შევისწავლეთ გასუფთავების შემდგომ და გასუფთავებამდელი vB_GEC_coli_108 ბაქტერიოფაგის ადსორბციის მახასიათებელი. შედეგად მივიღეთ, რომ ორივე შემთხვევაში ფაგის ბაქტერიის უჯრედზე ადსორბციის დრო იყო 5 წთ. შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ბაქტერიული საკვები ნიადაგი არ თრგუნავს ბაქტერიოფაგის ლიზისის უნარს.
- ფაგებისა და საწუწნ აბების კომპონენტების ურთიერთქმედების შესწავლით ვნახეთ, რომ იზოლამტი და სხვადასხვა მცენარეული არომატიზატორები არ იწვევდა ფაგების ინჰიბირებასა.
- დადგინდა საწუწნი აბიდან ფაგის გამოსვლის კინეტიკა. ფაგი გამოდის აბიდან ეტაპობრივად 20 წთ განმავლობაში რაც აბის ეფექტურობას კიდევ უფრო ზრდის.
- განისაზღვრა მიღებული ახალი ფაგური პრეპარატის ანტიფუნგალური მოქმედების სპექტრი. ცდისთვის გამოვიყენეთ 12

შტამი. მიღებულ აბის ანტიფუნგალური აქტივობა განისაზღვრა 22%-თ. რის შედეგადაც დადგინდა, რომ ჩვენს მიერ მიღებულ აბს ახასიათებს მოქმედების ფართო სპექტრი როგორც ანტიბაქტერიული ისე ანტიფუნგალური, რომელიც მიიღწევა აბებში არსებული მცენარეული ექსტრაქტის ხარჯზე.

- შესწავლილ იქნა მიღებული აბის აქტივობა დროის ხანგრძლივ მონაკვეთში (2 წელი). vB_Ent_f_74; vB_GEC_SP_M_1; vB_GEC_coli_108; vB_GEC_Stap_106 ფაგები ინარჩუნებდნენ თერაპიულ დოზას 2 წლის განმავლობაში.

გამოქვეყნებულ ნაშრომთა სია

1. ი. ჭყონია, ზ.ალავიძე, მ. გოდერძიშვილი, მ.ძიძიშვილი, ნ. ქვათაძე, დ. ჟღენტი, ნ. მახათაძე, ს. რიგვავა, ნ. ქარუმიძე, თ. გვალიძე, . კუსრაძე, ს. ბარბაქაძე. შერეული ინფექციების საწინააღმდეგო ნატურალური ფაგური ბიოკომპოზიტი. მიკრობიოლოგია და ბიოტექნოლოგია. ISSN 1987-8249. ტომი 4, 2013 თბილისი გვ 10-19;
2. ს. რიგვავა, ი. კუსრაძე, ნ. ქარუმიძე, თ. გვალიძე, მ. კაციტაძე, ს. ბარბაქაძე, დ. ბოლქვაძე, მ. გოდერძიშვილი. ახალი ზომიერი ენტეროკოკის ფაგი vB_GEC_EFS_2 ლიზოგენური კონვერსიის პოტენციალი. GMN Georgian Med News. 2019, გვ. 1250-1261;
3. R. Bauer , N. Neffgen, A. Grempels, M. Furitsch, S. Mauerer, S.Barbaqadze, G. Haase, B. Spellerberg. Heterogeneity of Streptococcus anginosus ß-hemolysis in relation to CRISPR/Cas. Molecular Oral Microbiology. 2020, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31977149/
4. ს.ბარბაქაძე. ბაქტერიოფაგის გასუფთავება მისი მორფოლოგიის გასუფთავების მიზნით. ტრანსპორტი და მანქანათქშენებლობა, სამეცნიერო-ტექნიკური ჟურნალი, ISSN 1512-3537 #2 (51) 2021

Abstract

Acute respiratory tract infections are on the third place according to the WHO report 2020. Statistical information indicates that every year billion people got infections: tracheitis, pharyngitis, sore throat, tonsillitis, caused by *Streptococcus, Staphylococcus, Enterococcus, E.coli*.

It's stated that on the early stage of sore throat or pharyngitis the patient treats themselves with different preparations from the pharmacy that does not need recipe, such are pastilles. From the beginning such medicines reduces inflammation, but often complication takes place when infection is caused by resistant bacteria. In this case pastilles are unsuccessful and for the further treatment antibiotics become necessary.

Spread of the antibiotic resistant bacteria renewed interest of phage therapy in medicine. Nowadays phage therapy has occupied a wide range of infections. The effectiveness of phage therapy has long term history. In addition, bacteriophages are characterized as harmless antibacterial in comparison with antibiotics.

The main field of long research history of Lab General microbiology, G. Eliava IBMV, is creation of different phage preparations, development their technology and involving them in phage therapy. There are several phage preparations worked out by above mentioned laboratory. Phage preparations are used on early stage of diseases, also within complicated pharyngitis, sore throat, when infection is caused by antibiotic resistant bacteria. Because the absence of side effects phage preparations are widely used in children, pregnant, breastfeeding moms. Despite this the aim of the project is development of the manufacture technology for the pastilles containing phage cocktail. Pastilles will be like phage depot and step by step phage will release.

This work participanted G. Eliava IBMV, lab of General Microbiology and pharmaceutical company LTD "Neopharmi". LTD "**Neopharmi**' is the only manufacture in Georgia which has the pastilles production line and accordingly produces pastilles "Salvia+C"/"Eucalyptus+C". Antibacterial activity of mentioned pastilles is determined by the complex of biologically active ingredients in Salvia and Eucalyptus. Their antiviral and antifungal activity increases interest to these preparations. Within the study phage preparation was added to the mentioned pastilles and phage containing pastille has be created, that has not the analogy on pharmaceutical market today. It has not only the wide antibacterial activity, but antivirus and antifungal activity as well. The mentioned preparation will be competitively not only against other antibacterial pastilles, but antibiotics too and will be available in pharmacies without recipes.