ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

გამოყენებითი ბიომეცნიერებებისა და ბიოტექნოლოგიის საბაკალავრო პროგრამა

დავით ლაზვიაშვილი

გარემოდან გამოყოფილი S. *aureus*-ის მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების დახასიათება და ანტიბიოტიკორეზისტენტული იზოლატების მიმართ მათი ეფექტურობის შესწავლა

ნაშრომი შესრულებულია გამოყენებითი ბიომეცნიერებებისა და ბიოტექნოლოგიის ბაკალავრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ნაშრომი შესრულდა გ.ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის კვლევისა და განვითარების განყოფილებაში

ხელმძღვანელები:

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი **ნინა ჭანიშვილი**

თსუ-ს დოქტორანტი **ნატა ბაკურაძე**

თბილისი

2022 წ.

ანოტაცია

ბოლო წლების განმავლობაში S. *aureus*-ის ანტიბიოტიკორეზისტენტული ფორმების მიერ გამოწვეული დავადებების რიცხვი საგრძნობლად გაიზარდა. ბაქტერიული ინფექციების წინააღმდეგ ბრძოლას მსოფლიოს მასშტაბით ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების გაჩენა და გავრცელება ართულებს.

კვლევები გვიჩვენებს, რომ 2019 წელს ბაქტერიების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო მსოფლიოს მასშტაბით 4,95 მილიონი ადამიანი გარდაიცვალა, რაც ამ პრობლემას სიკვდილის მე-3 ყველაზე გავრცელებულ მიზეზად აქცევს. აღნიშნული მონაცემების მიხედვით მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ 2050 წლისთვის, ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო, ყოველწლიურად 10 მილიონამდე ადამიანი დაიღუპება.

ყოველივე ზემოთ ხსენებულიდან გამომდინარე ახალი ალტერნატიული სამკურნალო საშუალებების ძებნა აქტუალური და აუცილებელია.

მიკრობული ინფექციების წინააღმდეგ ყველაზე უვნებელ, ოპტიმალურ და ეფექტურ ალტერნატიულ გზად ბაქტერიის ვირუსები ანუ ბაქტერიოფაგები მოიაზრებიან. ანტიბიოტიკოთერაპიასთან შედარებით, ფაგოთერაპიას მრავალი უპირატესობა გააჩნია, ეფექტურია ანტიბიოტიკორეზისტენტული ბაქტერიული შტამების მიმართ და არ აზიანებს ორგანიზმის ნორმალურ მიკროფლორას.

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა S. *aureus*-ის მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების დახასიათება და ანტიბიოტიკორეზისტენტული იზოლატების მიმართ მათი ეფექტურობის შესწავლა. ამ მიზნის მისაღწევად შესრულდა შემდეგი ამოცანები 1) მოხდა გ. ელიავას სახელობის ინსტიტუტის კვლევისა და განვითარების განყოფილების ბაზაზე არსებული S. *aureus* შტამების იდენტიფიკაცია და მათი ანტიბიოტიკომგრძნობელობის სპექტრის დადგენა; 2) განისაზღვრა ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების ფაგომგრძნობელობის სპექტრი გარემოდან გამოყოფილი ბაქტერიოფაგების მიმართ; 3) დავახასიათე საუკეთესო მონაცემების ფაგი.

49 ბაქტერიული შტამიდან გენტამიცინის მიმართ რეზისტენტული იყო 4 (8.1%), ერითრომოცინის მიმართ 15 (30.6%), ამპიცილინის 38 (77.5%), ლინკომიცინის 4 (8.1%), კლინდამიცინის მიმართ 2 (4.08%), ლინეზოლიდის მიმართ არცერთი შტამი არ იყო რეზოსტენტული (0%), ცეფალექსინის მიმართ 4 (8.1%), ტობრამიცინის მიმართ 13 (26.5%), ოქსაცილინის მიმართ 4 (8.1%) ხოლო ტეტრაციკლინის მიმართ რეზისტენტული იყო 7 შტამი (14.2%).

გამოვლინდა S. *aureus*-ის შტამებზე მქომედების ყველაზე ფართო სპექტრის მქონე ფაგი, რომლის მიმართაც მგრძნობელობა გამოავლინა 49-დან 12 ბაქტერიულმა იზოლატმა, რომელთაგან მხოლოდ 1 არ იყო არცერთი გამოყენებული ანტიბიოტიკის მიმართ რეზისტენტული. შესწავლილ იქნა შერჩეული ფაგის ბიოლოგიური მახასიათებლები.

Abstract

The number of diseases caused by antibiotic-resistant forms of S. *aureus* has increased significantly in recent years. The fight against bacterial infections is further complicated by the emergence and spread of antibiotic-resistant strains worldwide.

Studies show that 4.95 million people worldwide died in 2019 due to antibiotic-resistant bacteria, making this problem the third most common cause of death. According to these data, scientists estimate that by 2050, up to 10 million people will die each year due to antibiotic resistance.

In view of all the above, the search for new alternative therapies is urgent and necessary.

Bacterial viruses or bacteriophages are considered to be the most harmless, optimal and effective alternative way against microbial infections.

Compared to antibiotic therapy, phage therapy has many advantages, phage therapy is effective against antibiotic-resistant bacterial strains and does not damage the normal microflora of the body.

The aim of our study was to characterize bacteriophages active against S. *aureus* and to study their efficacy against antibiotic-resistant isolates. To achieve this goal, the following tasks were performed: 1) S. *aureus* strains based on the Research and Development Department of the G. Eliava Institute were identified and their spectrum of antibiotic sensitivity was determined; 2) The spectrum of phage susceptibility of antibiotic-resistant strains to bacteriophages isolated from the environment was determined; 3) Phage with the best therapeutic potential was characterized.

Out of 49 bacterial strains, 4 (8.1%) were resistant to Gentamicin, 15 (30.6%) were resistant to Erythromycin, 38 (77.5%) to Ampicillin, 4 to Lincomycin (8.1%), 2 to Clindamycin (4.08%), none to Linezolid was not resistant (0%), 4 (8.1%) to Cephalexin, 13 (26.5%) to Tobramycin, 4 (8.1%) to Oxacillin and 7 (14.2%) to Tetracycline.

Phage with the widest spectrum on S. aureus stains has been identified, which was effective on 12 bacterial isolates from 49, only one of them was sensitive to all antibiotics used in our study. We characterized the biology of the selected phage.

სარჩევი

ანოტაცია 2
Abstract 3
შესავალი 6
ლიტერატურის მიმოხილვა 7
თავი 1. S. *aureus*-ის ზოგადი დახასიათება 7
1.1. ჰემოლიზინები (α, β, γ, δ) 9
1. 2. ლეიკოტოქსინები 9
1.3. სტაფილოკოკური ეგზოფილიატური ტოქსინი 9
1.4. სტაფილოკოკური ენტეროტოქსინები და ტოქსიკური შოკის სინდრომის ტოქსინი-1 10
თავი 2. S. *aureus* - ის ეპიდემიოლოგია 10
თავი 3. ანტიბიოტიკორეზისტენტობა 11
3.1. ანტიბიოტიკების აღმოჩენა და გამოყენება 11
3.2. ანტიბიოტიკების კლასები 12
3.3. ანტიბიოტიკების მოქმედების მექანიზმები 18
3.4. ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის განვითარების მექანიზმები 21
3.5. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გლობალური პრობლემა და მისი გადაჭრის გზები 23
თავი4. ბაქტერიოფაგები 24
4.1. ბაქტერიოფაგების ზოგადი დახასიათება 24
4.2. ბაქტერიოფაგების კლასიფიაკცია 25
4.3. ბაქტერიოფაგის ლითიური ციკლი 28
კვლევის მეთოდოლოგია 29
თავი 5. ბაქტერიული შტამების შესწავლისთვის გამოყენებული მეთოდები 29
5.1. S. aureus შტამების იდენტიფიკაციის კულტურალური მეთოდი 29
5.2. ანტიბიოტიკო-მგრძნობელობის განსაზღვრა 30
5.3. გრამის წესით შეღებვა 31
თავი 6. ბაქტერიოფაგების შესწავლისთვის გამოყენებული მეთოდები 32
6.1. ბაქტერიოფაგების გამოყოფა 32
6.2. ბაქტერიოფაგების აქტივობისა და მოქმედების სპექრის შესწავლა ლაქების მეთოდით (SPOT-TEST) 33
6.3. ბაქტერიოფაგების აქტივობისა და მოქმედების სპექტრის შესწავლა შტრიხების მეთოდით 33
6.4. ბაქტერიოფაგების ტიტრის განსაზღვრა ორშრიანი აგარის ანუ გრაციას მეთოდით 34
6.5. დათესვის ეფექტურობა 35
6.6. ბაქტერიოფაგის ერთჯერადი გამრავლების ციკლი 35

კვლევის შედეგები 37
თავი 7. ბაქტერიული შტამების დახასიათება 37
7.1. კლინიკური შტამების იდენტიფიცირება 37
7.2. ანტიბიოტიკო მგრძნობელობის სპექტრის დადგენა 39
თავი 8. ბაქტერიოფაგების დახასიათება 41
8.1. ფაგების მოქმედების სპექტრის განსაზღვრა 41
8.2. დათესვის ეფექტურობა 43
8.3. ბაქტერიოფაგის ერთჯერადი გამრავლების ციკლი 43
დასკვნები 44
გამოყენებული ლიტერატურის სია 45

შესავალი

Staphylococcus aureus (ოქროსფერი სტარფილოკოკი) მიეკუთვნება სტაფილოკოკების გვარს და წარმოადგენს გრამ-დადებითი კოკის ფორმის ბაქტერიას. ადამიანთა პოპულაციის დაახლოებით 30% S. *aureus*-ით არის კოლონიზირებული, რომელიც, ძირითადად, ჯანმრთელი ადამინის ცხვირის ღრუშია ლოკალიზებული. ამ პათოგენის მიერ გამოწვეული ინფექციები მიეკუთვნება როგორც კლინიკაში (nosocomial), ისე საზოგადოებაში შეძენილ დაავადებებს (community acquired). მათ შორის, ეს მიკროორგანიზმი კანის წყლულების, იმპეტიგოს, ცელულიტის, სტაფილოკოკური დამწვარი კანის სინდრმის (Staphylococcal scalded skin syndrome), პნევმონიის, ბაქტერემიისა და ტოქსიკური შოკის სინდრომის გამომწვევია (Taylor & Unakal, 2022).

S. *aureus* გვხვდება, როგორც გარემოში, ასევე ადამიანის ნორმალურ ფლორაში, კანზე ან ლორწოვან გარსებზე (ყველაზე ხშირად ცხვირის არეში). ჩვეულებრივ, S. *aureus* ჯანსაღ კანზე ინფექციებს არ იწვევს, თუმცა მას ქსოვილიში ან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში შეღწევის უნარი გააჩნია, რაც მის პათოგენურ უნარზეა დამოკიდებული (Taylor & Unakal, 2022).

ბაქტერიულ ინფექციებთან ბრძოლის ყველაზე გავრცელებულ გზას ანტიბიოტიკებით მკურნალობა წარმოადგენს, თუმცა დღესდღეობით ამ პრეპარატების ზედმეტმა და არასწორმა მოხმარებამ ბაქტერიებში (მათ შორის S. *aureus*-ში) ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბება გამოიწვია. ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტულ პათოგენებთან ბრძოლა წარმოადგენს თანამედროვე მედიცინისა და საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ერთ-ერთ გლობალურ გამოწვევას (World Health Organization, 2020). ასეთი შტამების წარმოქმნას ასევე განაპირობებს, შემდგომში ხორცპროდუქტებად გამოყენებული, ცხოველების მოსაშენებლად ანტიბიოტიკების ინტენსიური მოხმარება (Mourabit, Arakrak, Bakkali, & Zian, 2021).

S. *aureus*-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენული შტამების მიერ გამოწვეულმა ინფექციებმა უკვე მიაღწია ეპიდემიურ მასშტაბებს გლობალურად. ჩატარებული კველევები გვიჩვენებს, რომ 2019 წელს ბაქტერიების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო მსოფლიოს მასშტაბით 4,95 მილიონი ადამიანი გარდაიცვალა, რაც ამ პრობლემას სიკვდილის მე-3 ყველაზე გავრცელებულ მიზეზად აქცევს. აღნიშნული მონაცემების მიხედვით მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ 2050 წლისთვის, ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო, ყოველწლიურად 10 მილიონამდე ადამიანი დაიღუპება (C. J. L. Murray et al., 2022).

აღნიშნულიდან გამომდინარე, საჭიროა S. *aureus*-ის ინფექციის ალტერნატიული სამკურნალო საშუალების ძიება, რომელიც არ გამოიწვევს ბაქტერიებში ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განვითარებასა და შესაბამისად მათ გაძლიერებას. პრობლემის გადაჭრის ერთ-ერთ გზას წარმოადგენს ფაგოთერაპია ანუ S. *aureus* სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების, ბაქტერიის ვირუსის, გამოყენება ინფექციის საწინააღმდეგოდ.

პროექტის მიზანია გ.ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის კოლექციაში არსებული S. *aureus*-ის მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების დახასიათება და ანტიბიოტიკორეზისტენტული იზოლატების მიმართ მათი ეფექტურობის შესწავლა.

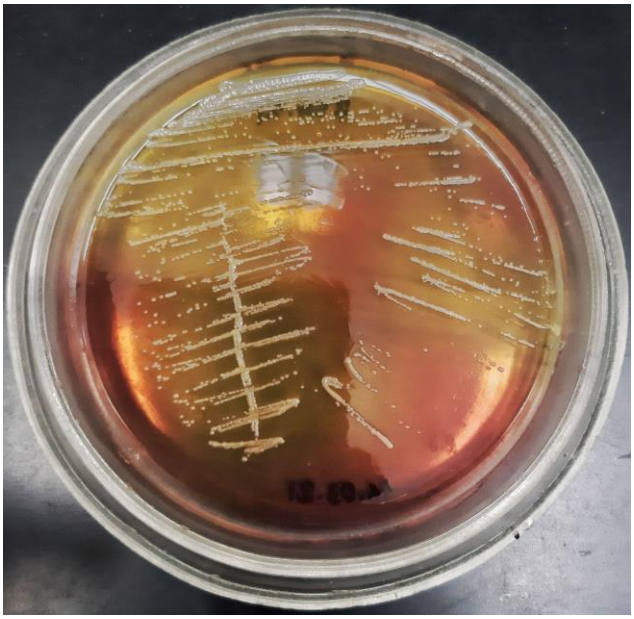
კვლევა ჩატარდა გ.ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის კვლევისა და განვითარების განყოფილების ბაზაზე.

ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი 1. S. *aureus*-ის ზოგადი დახასიათება

ოქროსფერი სტაფილოკოკი პირველად გამოყოფილ იქნა 1880 წელს ადამიანის ჩირქიდან შოტლანდიელი ქირურგის ალექსანდრე ოგსტონის მიერ. სახელწოდება მომდინარეობს სიტყვებისგან მტევანი (staphyl) და მარცვალი (kokkos), რადგან მიკროსკოპული დათვალიერებისას ბაქტერიები ყურძნის მტევნებს ჰგვანან (Licitra, 2013). 1886 წელს სტაფილოკოკის ორი შტამი იზოლირებულ იქნა სუფთა კულტურებად გერმანელი ქირურგის ჯ. როზენბახის მიერ, ერთ-ერთი მათგანი იყო S. *aureus*, რომელსაც სახელი ეწოდა პიგმენტური კოლონიების ფერის გამო (Licitra, 2013).

Staphylococcus aureus (ოქროსფერი სტაფილოკოკი) მიეკუთვნება სტაფილოკოკების გვარს , წარმოადგენს გრამდადებით, ფაკულტატურ ანაერობულ (გარდა S. *aureus* anaerobius), კოკის ფორმის ბაქტერიას, რომელიც მრავალ კლინიკურ დაავადებას იწვევს (Becker, Harmsen, Mellmann, & Meier, 2004). დიამეტრი 0,5 µm-დან 1,5 µm-მდე ვარირებს და ლაგდებიან მტევნებად, წყვილებად ან მოკლე ჯაჭვებად. S. *aureus* არ არის მოძრავი და არ წარმოქმნის სპორებს (Kluytmans, Belkum, & Verbrugh, 1997).



სურ. 1. S. *aureus* -ის ზრდა მანიტოლის აგარზე.

ადამიანთა პოპულაციის დაახლოებით 30% *S. aureus*-ით არის კოლონიზირებული, რომელიც, ძირითადად, ჯანმრთელი ადამინის ცხვირის ღრუშია ლოკალიზებული. ამ პათოგენის მიერ გამოწვეული ინფექციები მიეკუთვნება როგორც კლინიკაში (nosocomial), ისე საზოგადოებაში შეძენილ დაავადებებს (community acquired). მათ შორის, ეს მიკროორგანიზმი კანის წყლულების, იმპეტიგოს, ცელულიტის, სტაფილოკოკური დამწვარი კანის სინდრმის (Staphylococcal scalded skin syndrome), პნევმონიის, ბაქტერემიისა და ტოქსიკური შოკის სინდრომის გამომწვევია (Taylor & Unakal, 2022).

S. *aureus* გვხვდება, როგორც გარემოში, ასევე ადამიანის ნორმალურ ფლორაში, კანზე ან ლორწოვან გარსებზე (ყველაზე ხშირად ცხვირის არეში). ჩვეულებრივ S. *aureus* არ იწვევს ინფექციებს ჯანსაღ კანზე, თუმცა თუ ის შეაღწევს ქსოვილში ან სისხლის მიმოქცევის სისტემაში მას შეუძლია გამოიწვიოს მრავალი, პოტენციურად საშიში, დაავადება. საკვებ არეზე მათი კოლონიები ოქროსფერი ან ყვითელია, რასაც პიგმენტი კაროტინოიდები განაპირობებენ.

S. *aureus* ინფექციის ტიპის მიხედვით პათოფიზიოლოგია მნიშვნელოვნად განსხვავდება. ამ ბაქტერიებს მასპინძლის იმუნური პასუხის თავიდან აცილების მექანიზმები გააჩნიათ, რომლებიც მოიცავს: ანტიფაგოციტური კაფსულის წარმოქმნას, A-ცილით მასპინძლის ანტისხეულების სეკვესტრირებას ან ანტიგენის დაფარვას, ბიოფილმის ფორმირებას, უჯრედშიდა გადარჩენას და ლეიკოციტების ქემოტაქსის ბლოკირებას (Vandenesch, Lina, & Henry, 2012).

S. *aureus*-ის ვირულენტობაში მნიშვნელოვანია ფერმენტები, რომლებსაც ის წარმოქნის:

- კოაგულაზა - წარმოადგენს კოფაქტორს, თავად არ გააჩნია ფერმენტული აქტივობა, თუმცა უკავშირდება მასპინძლის ზიმოგენებს. წარმოქმნის თრომბინის მსგავს ნივთიერებას, რაც იწვევს სისხლის პლაზმის შედედებას.
- კატალაზა - შლის წყალბადის ზეჟანგს და იცავს მიკრობს ფაგოციტოზის პროცესში.
- ჰიალურონიდაზა - შლის ჰიალურონის მჟავას, რომელიც ხერხემლიანებში ექსტრაცელულარული მატრიქსის მნიშვნელოვანი შემადგენელი კომპონენტია და უზრუნველყოფს უჯრედებისა და ქსოვლილების ჰომეოსტაზს, ასევე მნიშვნელოვანია იმუნურ რეგულაციაში. ჰიალურონის მჟავას შეიცავს შემაერთებელი ქსოვილი მისი დაშლა კი ხელს უწყობს მიკრობის გავრცელებას.
- ურეაზა - შლის შარდის მჟავას ამონიუმამდე, ხრის შარდის pH-ს ტუტისკენ და ხელს უწყობს კენჭების წარმოქმნას.

S. *aureus*-ის უნარი გამოიწვიოს მრავალი დაავადება და თავი აარიდოს მასპინძლის იმუნურ პასუხს განპირობებულია ვირულენტობის ფაქტორების ექსპრესიით. S. *aureus*-ის ინფექცია დამოკიდებულია ზედაპირული ცილების წარმოქმნაზე, რომლებიც განაპირობებენ ბაქტერიის ადჰეზიას მასპინძლის ქსოვილზე, უჯრედგარე ტოქსინებისა და ფერმენტების სეკრეცია კი განაპირობებს მასპინძლის უჯრედებისა და ქსოვილების განადგურებას, იმუნური პასუხის თავიდან აცილებას ან მოქმედების დარღვევას, ასევე ხელს უწყობს ბაქტერიის გავრცელებას უჯრედებში (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

ტოქსინები ესაა ცილები, რომლებსაც S. *aureus* სეკრეტირებს ექსტრაცელულარულ მატრიქსში პოსტექსპონენციური და ადრეული სტაციონარული ფაზების დროს. ეს ცილები მონაწილეობენ ქსოვილში შეღწევასა და ბაქტერიის ორგანიზმში გავრცელებაში. ისინი არიან ციტოლიტიკური და ეხმარებიან ბაქტერიას საკვები ნივთიერებების, მაგალითად რკინის, მოპოვებაში ლიზირებული უჯრედებიდან (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

S. *aureus*-ის სეკრეტირებულ ტოქსინებს მიეკუთვნება: ჰემოლიზინი, ლეიკოტოქსინი, ენტეროტოქსინი და ტოქსიკური შოკის სინდრომის ტოქსინი-1 (TSST-1). გარდა ტოქსინებისა ოქროსფერი სტაფილოკოკის ვირულენტობის ფაქტორებს ფერმენტები და ზედაპირული ცილებიც მიეკუთვნება. ისეთი ფერმენტების სეკრეტირება, როგორებიცაა კოაგულაზა, პროტეაზა და სტაფილოკინაზა ბაქტერიას ეხმარება მასპინძლის იმუნური პასუხისთვის თავის არიდებასა და ქსოვილში შეჭრაში. ამ ფერმენტების უმრავლესობა განაპირობებს მასპინძლის მოლეკულების დეგრადიაციას ან სხვადასხვა სასიგნალო კასკადსა თუ მეტაბოლურ გზაში ჩართვას. გარდა ამისა

ზედაპირული ცილები (შეკუმშვის ფაქტორები, ფიბრონექტინის ცილები, ცილა A, კოლაგენის ადჰეზინი) განაპირობებენ ბაქტერიის ადჰეზიას, ქსოვილში შეჭრასა და მასპინძლის პასუხის აცილებას (Kong, Neoh, & Nathan, 2016)

MSCRAMMS (microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules) წარმოადგენენ ზედაპირული ცილების უდიდეს ოჯახს და აუცილებელია მასპინძლის უჯრედგარე მატრიქსთან მიმაგრებისთვისა და კოლონიზაციისთვის (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

1.1. ჰემოლიზინები (α, β, γ, δ)

ჰემოლიზინები წარმოადგენს ტოქსინებს, რომლებიც სისხლის წითელ უჯრედებს შლიან და მათი აქტივობა ჩვეულებრივ რეცეპტორზეა დამოკიდებული (რეცეპტორდამოკიდებული) (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

ჰემოლიზინების მრავალი კლასი არსებობს, მათ შორის α, β და γ ჰემოლიზინები. δ ჰემოლიზინი კლასიფიცირებული იქნა როგორც ფენოლ ხსნადი მოდულინი (phenol-soluble modulin - PSM), რომელსაც ჰემოლიზური აქტივობისთვის რეცეპტორი არ ესაჭიროება. α ჰემოლიზინი სტაფილოკოკური ჰემოლიზინების ყველაზე უკეთ შესწავლილი წევრია. β კასრის ფორმის ფორების წარმომქმნელი ციტოტოქსინი შლის სისხლის წითელ უჯრედებსა და ლეიკოციტებს, თუმცა ნეიტროფილების ლიზისს არ იწვევს. სეფსის დროს α ტოქსინის სინერგისტულმა მოქმედებამ მიელოიდურ უჯრედებსა და თრომბოციტებზე გამოიწვია მასპინძელი ცხოველების სიკვდილი, თუმცა ADAM10 (რეცეპტორის მაკოდირებელი გენი) ნოკაუტირებული ორგანიზმები დაცულები აღმოჩნდნენ ტოქსინის ლეტალური ეფექტისგან (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

მიუხედავად იმისა რომ ტოქსინის სამიზნე უჯრედები ცნობილია, მისი მოქმედების მექანიზმი ჯერ კიდევ უცნობია. მიჩნეულია, რომ β -ჰემოლიზინი ძირითადად მოქმედებს სფინგომიელინზე. ტოქსინი, დიდი ალბათობით, ახდენს უჯრედის პლაზმური მემბრანის ბილიპიდური შრის დესტაბილიზაციას და იწვევს პლაზმური მემბრანის თხევადი მდგომარეობის არარეგულარობას (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

Γ-ჰემოლიზინს ჰემოლიზური ეფექტი ახასიათებს კურდღლის ერითროციტებისთვის, მისი მემბრანის დამაზიანებელი აქტივობა მჟღავნდება ლეიკოციტებშიც (ნეიტროფილები, მონოციტები, გრანულოციტები და მაკროფაგები). ჰემოლიზინების ეს ჯგუფი არის ორ-კომპონენტიანი და შედგებიან S (slow, HlgA or HlgC) და F (fast, HlgB) პოლიპეპტიდებისგან. F კომპონენტი სამიზნე უჯრედს დაუკავშირდება ფოსფატიდილქოინზე, ხოლო S კომპონენტი უკავშირდება სამიზნე უჯრედის მემრანას, რაც უჯრედის ლიზისს იწვევს (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

1. 2. ლეიკოტოქსინები

ლეიკოტოქსინები სისხლის თეთრ უჯრედებს შლიან და აქტივობისთის რეცეპტორები ესაჭიროება. ლეიკოტოქსინების რეცეპტორები ბოლო დრომდე არ ყოფილა შესწავლილი. ტოქსინების ეს ჯგუფი მიეკუთვნება ლეიკოტოქსინების ორ-კომპონენტიანი ტოქსინების ოჯახს (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

1.3. სტაფილოკოკური ეგზოფილიატური ტოქსინი

სტაფილოკოკური ეგზოფილიატური ტოქსინები (ETs) წარმოადგენენ სერინ-პროტეაზებს და სტაფილოკოკური დამწვარი კანის სინდრომის (SSSS) გამომწვევ აგენტს, ეს დაავადება

ძირითადად ახალშობილებსა და ჩვილებში ფიქსირდება. ინფიცირებულ პირებს კანზე ბუშტუკები, ზედაპირული ფენების დაკარგვა, დეჰიდრატაცია და მეორადი ინფექციები აღენიშნებათ. სტაფილოკოკური ETs-ის მოქმედების მექანიზმი შესწავლილია, მის სამიზნეს ცილა დესმოგლეინ-1 წარმოადგენს, რომლის დაშლის შედეგად უჯრედების დესმოსომური კავშირები ნადგურდება. კანის ეპიდერმული შრის დაზიანება კიდევ უფრო აადვილებს ინფექციის პროგრესირებას (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

1.4. სტაფილოკოკური ენტეროტოქსინები და ტოქსიკური შოკის სინდრომის ტოქსინი-1

სტაფილოკოკური ენტეროტოქსინები (SEs) საკვებით გამოწვეული დაავადებების ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული მიზეზია, რომელიც ღებინებასა და დიარეას იწვევს. ტოქსინს საკვებში S. *aureus* - ის ენტეროტოქსიგენური შტამები ასეკრეტირებენ. ისინი არიან თერმომდგრადები ამიტომ კულინარიული პროცედურების დროს არ დეგრადრდებიან. დღეისათვის 20-ზე მეტი სტაფილოკოკური ენტეროტოქსინია იდენტიფიცირებული, რომლებიც ერთმანეთისგან ანტიგენის ჰეტეროგენურობით დიფერენცირდებიან. SE წარმოადგენენ სუპერანტიგნებს, რომლებიც T-უჯრედების აქტივაციასა და პროლიფერაციას იწვევენ, მათი მოქმედების მექანიზმი, სავარაუდოდ, ციტოკინების გამოყოფის აქტივაციასა და აპოპტოზითა და პოტენციურად ლეტალური ტოქსიკური შოკის სინდრომით უჯრედების სიკვდილს მოიცავს. მიუხედავად იმისა, რომ სტაფილოკოკური ენტეროტოქსინების სუპერანტიგენული აქტივობა კარგადაა დახასიათებული, მოქმედების გზები, რმლებიც დიარეასა და ღებინებას იწვევს ჯერ კიდევ გაურკვეველია (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

ტოქსიკური შოკის სინდრომის ტოქსინი-1-ის (TSST-1) სეკრეცია სერიოზულ დაავადებებსა და სიკვდილიანობას იწვევს. საინტერესოა, რომ გენი, რომლიც ამ ტოქსინს აკოდირებს, შტამების მხოლოდ მცირე რაოდენობაში გვხვდება. როგორც აღმოჩნდა TSST-1-ის ლეტალურობას არა T უჯრედების პროლიფერაცია, არამედ მასპინძელი უჯრედების სხვა ტიპის რეცეპტორები განსაზღვრავს. ცნობილია, რომ TSST-1 ასტიმულირებს ქემოკინების გამოყოფას, როგორიცაა IL-8 და MIP-3α, IL-2 და TNFα. იმუნური უჯრედების გააქტიურება გაამლიერებს ანთებას და გამოიწვევს ლორწოვანის (მუკოზური) უჯრედული ბარიერის დარღვევას, რაც ტოქსინს T უჯრედებთან და მაკროფაგებთან ურთიერთქმედების საშუალებას მისცემს, ეს კი ტოქსიკური შოკის სინდრომს იწვევს (Kong, Neoh, & Nathan, 2016).

თავი 2. S. *aureus* - ის ეპიდემიოლოგია

S. *aureus* წარმოადგენს როგორც კომენსალურ, ისე პათოგენურ ბაქტერიას. ადამიანთა პოპულაციის დაახლებით 30% კოლონიზებულია S. *aureus*-ით. ამასთანავე, ის არის ბაქტერემიისა და ინფექციური ენდოკარდიტის (IE), ასევე კანის, რბილი ქსოვილის, პლევროპულმონალური და მოწყობილობასთან დაკავშირებული ინფექციების წამყვანი მიზეზი (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015).

მეტიცილინ რეზისტენტული S. *aureus*-ის გაჩენის გამო, ოქროსფერი სტაფილოკოკის კლინიკური და მოლეკულური ეპიდემიოლოგია ბოლო ორი ათწლეულის გამავლობაში მნიშვნელოვნად შეიცვალა (Rasigade, Dumitrescu, & Lina, 2014).

ინდუსტრიულ სამყაროში S. *aureus*-ით გამოწვეული ბაქტერემიის (SAB) სიხშირე წელიწადში ყოველი 100 000 ადამიანიდან 10-30-მდე აღწევს. 1957-დან 1990-წლამდე SAB-ის სიხშირე წელიწადში ყოველ 100 000 ადამიანზე 3 შემთხვევიდან 20 შემთხვევამდე გაიზარდა. 1991-დან

2005 წლამდე კანადაში, კერძოდ კვებეკში, მეტიცილინ-რეზისტენტული SAB-ის შემთხვევები წელიწადში ყოველი 100 000 ადამიანში 0 შემთხვევიდან 7,4-მდე გაიზარდა. მსოფლიოს არაინდუსტრიალიზებულ ნაწილში SAB-ის გავრცელების შესახებ ინფორმაცია ნაკლებადაა ცნობილი (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015).

1970-2000 წლებში შეერთებულ შტატებსა და ევროპაში ჩატარებული კვლევების მიხედვით ინფექციური ენდოკარდიტის (IE) შემთხვევათა სიხშირე წელიწადში ყოველი 100 000 ადამიანიდან 1,5-6-ს შეადენს, საიდანაც S. *aureus*-ის მიერ გამწვეული IE-ის წილი 16%-დან 34%-მდე მერყეობდა. შეერთებულ შტატებში ჩატარებული კვლევების მიხედვით თუ 1999 წელს S. aureus-ით გამოწვეული IE-ის სიხშირე წელიწადში 100 000-დან 11.4 ადამიანს შეადგენდა, 2006 წლისთვის ეს რიცხვი 16,6-მდე იყო გაზრდილი (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015).

მიუხედავად იმისა, რომ S. *aureus* ტრადიციულად კანისა და რბილი ქსოვილის ინფექციების ძირითადი გამომწვევი მიზეზი იყო, მისი მნიშვნელობა საზოგადოებასთან ასოცირებული მეტიცილინ-რეზისტენტული ოქროსფერი სტაფილოკოკის გავრცელების გამო, კიდევ უფრო გაიზარდა (Tong, Davis, Eichenberger, Holland, & Fowler, 2015).

თავი 3. ანტიბიოტიკორეზისტენტობა

3.1. ანტიბიოტიკების აღმოჩენა და გამოყენება

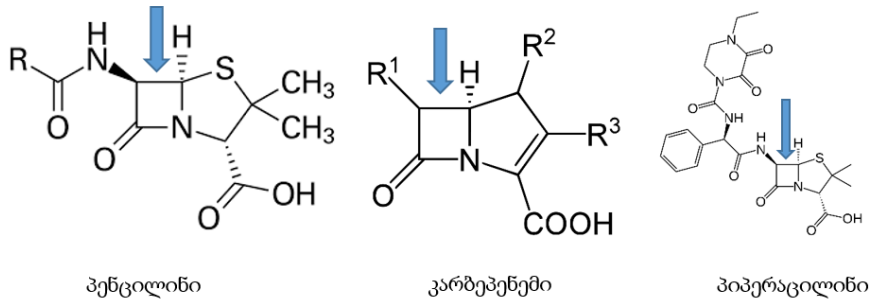
ტერმინი ანტიბიოტიკი წარმოიშვა სიტყვიდან „ანტიბიოზი“, რაც სიტყვასიტყვით ნიშნავს „სიცოცხლის წინააღმდეგ“. წარსულში ანტიბიოტიკები ითვლებოდა ორგანულ ნაერთებად, რომლებსაც წარმოქმნიდა ერთი მიკროორგანზმი და ტოქსიკური იყო მეორესთვის. თუმცა აღნიშნული მოსაზრება შეიცვალა და თანამედროვე განმარტებით ანტიბიოტიკები მოიცავენ ისეთ ნივთიერებებსაც, რომლებიც ნახევრად ან სრულად სინთეზური გზით მიიღება (Etebu & Arikekpar, 2016).

დაავადებათა სამკურნალოდ ანტიბიოტიკების წარმომქმნელ მიკრობებს ათასწლეულების წინ იყენებდნენ. ჯერ კიდევ 2000 წლის წინათ სერბეთში, ჩინეთში, საბერძნეთსა და ეგვიპტეში ღია ჭრილობებს დაფქული ობიანი პურის ნახარშით ამუშავებდნენ. როგორც აღმოჩნდა ანგლო-საქსების მიერ 1000 წლის წინათ გამოყენებული რეცეპტი ეფექტურია მეტიცილინ რეზისტენტული ოქროსფერი სტაფილოკოკის მიმართ. თუმცა ანტი იფექციური წამლების განვითარება გერმანელ ექიმთან და მეცნიერთან, პოლ ერლიხთანაა დაკავშირებული, რომელმაც სიფილისის გამომწვევის, Treponema pallidum-ის, სამკურნალოდ სინთეზირებული დარიშხანის შემცველი ორი წამალი, სალვარსანი და ნეოსალვარსანი, 100 წლის წინ შექმნა. შემდეგ სალვარსალი სულფონამიდური პრეპარატით, პრონტოზილით შეიცვალა, რომელიც გერმალელმა ბაქტერიოლოგმა გერჰარდ დომაგკმა აღმოაჩინა, რომელმაც ის საკუთარი შვილის სამკურნალოდ გამოიყენა. სულფონამიდები პირველი ფართო სპექტრის ანტიმიკრობული პრეპარატები იყო, რომლებიც კლინიკებში დღემდე გამოიყენება, თუმცა ფართოდ ჩაანაცვლა პენიცილინმა, რომელიც ალექსანდრ ფლემინგმა 1928 წელს დაბინძურებულ პეტრის თასზე დაკვირვებით აღმოაჩინა. შემდგომში პენიცილინი ნორმან ჰეთლმა და სხვა მეცნიერება ოქსფორდში გაასუფთავეს, რასაც უდიდესი მნიშვნელობა ჰქონდა მისი, როგორც პრეპარატის ჩამოყალიბებაში. 1940-დან 1960 წლამდე პერიოდი ითვლება ანტიბიოტიკების ოქროს ხანად, რაშიც დიდი წვლილი მიუძღვის წარმოშობით ებრაელ, ამერიკელ მეცნიერს სელმან ვაკსმენს, რომელმაც უამრავი ანტიბიოტიკი აღმოაჩინა, მათ შორის სტრეპტომიცინი და ნეომიცინი, რომლებიც

ტუბერკულიოზის წინააღმდეგ მოქმედ პირველ ანტიბიოტიკებად ითვლებიან (Hutchings, Truman, & Wilkinson, 2019).

3.2. ანტიბიოტიკების კლასები

ანტიბიოტიკების კლასიფიკაციის მრავალი გზა არსებობს, თუმცა ყველაზე გავრცელებული სქემა მათ მოლეკულურ სტრუქტურას, მოქმედების მექანიზმსა და აქტივობის სპექტრს ეფუძნება. კლასიფიკაციის ზოგიერთი სქემა მოიცვას პრეპარატის მიღების გზებს. ერთი სტრუქტურული კლასის ატიბიოტიკები ძირითად შემთხვევაში, ერთნაირი ეფექტურობით, ტოქსიკურობითა და ალერგიული უკუჩვენებით ხასიათდებიან. ქიმიური თუ მოლეკულური სტრუქტურის მიხედვით ანტიბიოტიკების ზოგიერთი კლასი ბეტა-ლაქტამებს, მაკროლიდებს, ტეტრაციკლნებს, ქუინოლონებს, ამინოგლიკოზიდებს, გლიკოპეპტიდებსა და ოქსაზოლიდინონებს მოიცვას (Etebu & Arikekpar, 2016).

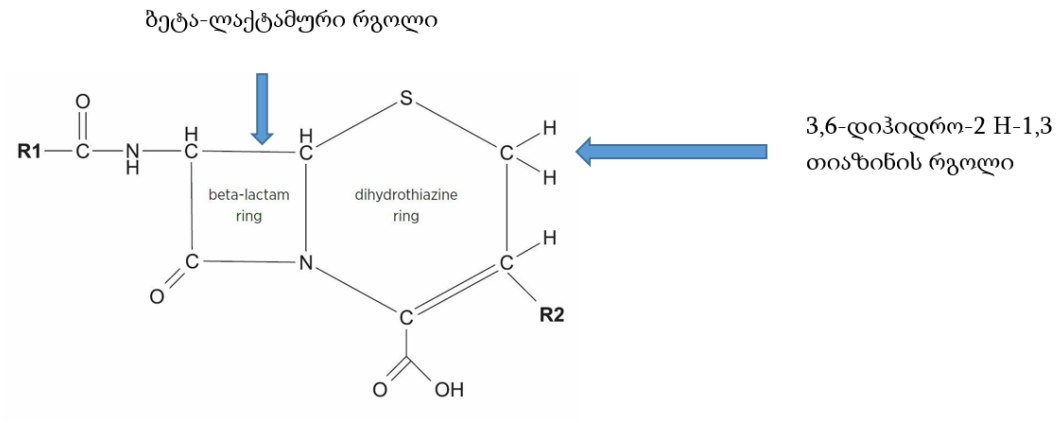


სურათი 2. .პენიცილინის ჯგუფის ანტიბიოტიკების მოლეკულრი სტრუქტურა. ისრებით ნაჩვენებია ბეტა-ლაქტამური რგოლები.

ბეტა-ლაქტამების კლასის ანტიბიოტიკები შეიცავენ ნახშირბადის 3 და აზოტის 1 რგოლს, რომელიც ძალიან რეაქტიულია. ისინი ურთიერთობენ ცილებთან რომლებიც აუცილებელია ბაქტერიული უჯრედის კედლის შენებაში და ამ პროცესში ისინი კლავენ ან აინჰიბირებენ ბაქტერიის ზრდას. ზოგიერთი ბაქტერიული ფერმენტი, რომლებსაც პენიცილინის დამაკავშირებელი ცილები (PBP) ეწოდება, პასუხისმგებელნი არიან პეპტიდოგლიკანური შრის სინთეზისას პეპტიდური ერთეულების დაკაშირებაზე. ბეტა-ლაქტამების კლასის წარმომადგენლებს აქვთ უნარი დაუკავშირდნენ PBP ფერმენტებს, რითაც პეპტიდოგლიკანური შრის სინთეზში ერთვებიან, რის შედეგადაც იწვევენ მის ლიზისსა და უჯრედის კვდომას. ბეტა-ლაქტამების ყველაზე თვალსაჩინო წარმომადგენლებს მიეკუთვნებიან პენიცილინები, ცეფალოსპორინები, მონობაქტამები და კარბაპენემები (Etebu & Arikekpar, 2016).

პენიცილინები ბეტა-ლაქტმურ ნერთებს მიეკუთვნება, რომლებიც 6-ამინოპენიცილანის მჟავას რგოლს შეიცავს. პენიცილინის კლასს მიეკუთვნება Penicillin G, Penicillin V, Oxacillin (dicloxacillin), Methicillin, Nafcillin, Ampicillin, Amoxicillin, Carbenicilin, Piperacillin, Mezlocillin და Ticarcillin (Etebu & Arikekpar, 2016). ზოგიერთ ბაქტერიას შეუძლია ანტიბიოტიკების მოქმედებისგან თავის დაცვა გარკვეული ფერმენტების წარმოქმნით. ზოგიერთ ანტიბიოტიკს, როგორებიცაა ampicillin, carbenicillin და amoxicillin, გააჩნია გვერდითი ჯაჭვები, რომელიბიც ანტიბიოტიკებს ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ფერმენტების აქტივობის თავიდან აცილების უნარს აძლევს და ხელს უწყობს მათ იმოძრაონ ბაქტერიული უჯრედის კედლის გარეთა შრეში. ეს ორმხრივი შესაძლებლობა გრამ უარყოფითი ბაქტერიების მიმართ მათი აქტივობის სპექტრს ზრდის (Etebu & Arikekpar, 2016).

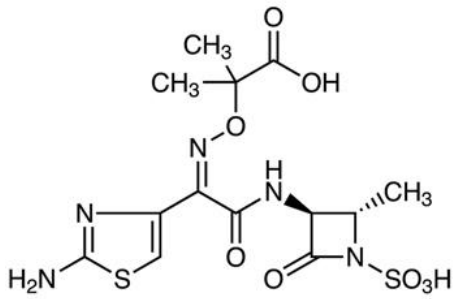
ცეფალოსპორინების კლასის წარმომადგენლები თავიანთი სტრუქტურისა და აქტივობის მექანიზმის მიხედვით პენიცილინებს ჰგვანან. ცეფალოსპორინები შეიცავენ 7-ამინოცეფალოსპორანის მჟავის ბირთვსა და გვერდითი ჯაჭვის 3,6-დიჰიდრო-2 H-1,3 თიაზინის რგოლებს (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 3. ცეფალოსპორინის მოლეკულური სტრუქტურა.

ცეფალოსპორინები გამოიყენება ისეთი ბაქტერიული დაავადებების სამკურნალოდ, რომლების გამოწვევაც ხდება პენიცილინაზას წარმომქნელი, მეტიცილინის მიმართ მგრძნობიარე სტაფილოკოკებისა და სტრეპტოკოკების, პროტეუს მირაბილისის, ეშერიხია კოლის ზოგიერთი შტამისა და სხვა ბაქტერიების მიერ. ცეფალოსპორინების თაობებად დაყოფა ხდება მათი სამიზნე ორგანიზმების მიხედვით, თუმცა ბოლო ვერსიები განსაკუთრებულად ეფექტურია გრამ უარყოფითი პათოგენების მიმართ. ცეფალოსპორინებს სხვადასხვა გვერდითი ჯაჭვი გააჩნიათ, რომლებიც მათ საშუალებას აძლევს მიმემაგრონ პენიცილინის დამაკავშირებელ ცილებს, გადალახონ ჰემატოენცეფალური ბარიერი, გაუძლონ პენიცილინაზას მოქმედებას და გრამ-დადებითი ბაქტერიების უჯრედში შესაღწევად იონიზირდნენ (Etebu & Arikekpar, 2016).

პირველი მონობაქტამური ანტიბიოტიკი ბაქტერია *Chromobacterium violaceum*-ისგან იქნა მიღებული. მონობაქტამები ბეტა-ლაქტამურ ნაერთებს მიეკუთვნება, თუმცა ამ კლასის სხვა წარმომადგენელებისგან განსხვავებით მათი ბეტა-ლაქტამური რგოლი განცალკევებულია. აზტრეონამი წარმოადგენს კომერციულად ხელმისწავდომ ერთადერთ მონობაქტამს, რომელსაც მოქმედების ვიწრო სპექტრი ახასიათებს. ის ეფექტურია მხოლოდ აერობული, გრამ-უარყოითი ბაქტერიების მიმართ, როგორებიცაა *Neisseria* და *Pseudomonas* (Etebu & Arikekpar, 2016).

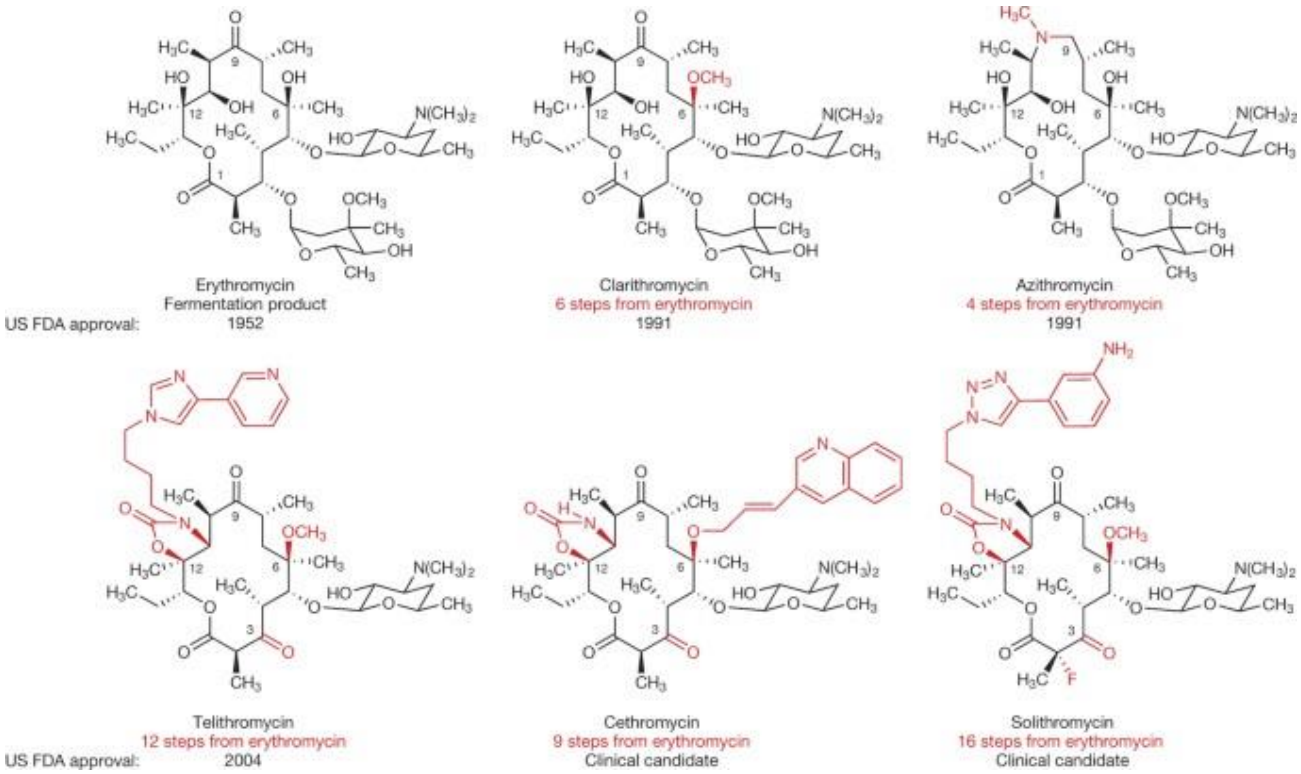


სურათი 4. აზტრეონამის მოლეკულური სტრუქტურა

კარბაპენებს ბაქტერიების წინააღმდეგ ბრძოლაში დიდი მნიშვნელობა აქვთ, რაც განპირობებულია იმით, რომ ისინი ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ფერმენტის, ბეტა-ლაქტამაზას, ჰიდროლიზურ აქტივობას უძლებენ. რამდენიმე ასეულ ცნოილ ბეტა-ლაქატამს შორის კარბაპენებს აქტივობის ყველაზე ფართო სპექტრი და უდიდესი პოტენციალი გააჩნიათ გრამ-დადებითი და გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების მიმართ. კარბაპენებს მიეკუთვება: Imipenem, Meropenem და Ertapenem (Etebu & Arikekpar, 2016).

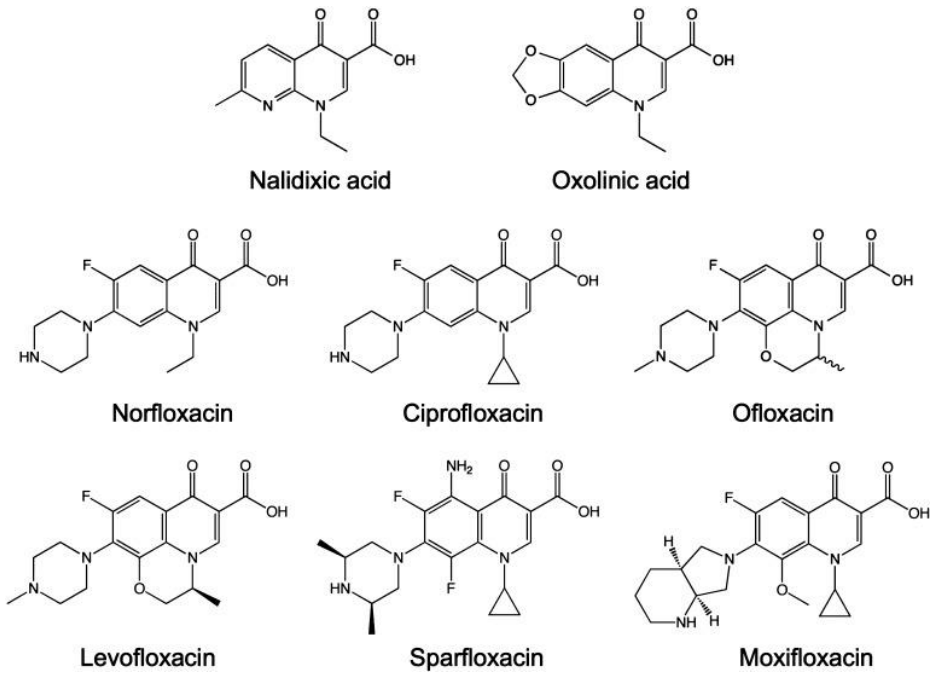
მაკროლიდების პიველი წარმომადგენელი აღმოჩენილი და იზოლიერებული იქნა 1952 წელს, J. M. McGuire-ის მიერ და წარმოადგენდა Saccharopolyspora erythraea-ის მეტაბოლიტს. მაკროლიდებს ანტიბიოტიკური მოქმედების უფრო ფართო სპექტრი ახასიათებთ ვიდრე პენიცილინებს, ასევე ისინი ხშირად ენიშნებათ პაციენტებს, რომლებიც პენიცილინების მიმართ ალერგიულები არიან. მაკროლიდები კლავენ ან აინჰიბირებენ მიკროორგანიზმებს, რასაც ბაქტერიის ცილების სინთეზის ინჰიბერებით ახერხებენ. ისინი უკავშირდებიან ბაქტერიის რიბოსომებს და ცილის სინთეზის პროცესში ხელს უშლიან ამინომჟავების დამატებას პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში. მიუხედავად იმისა, რომ მაკროლიდები ფართო სპექტრის ანტიბიოტიკებს წარმოადგენს, ზოგიერთი ბაქტერია, როგორიცაა მაგალითად *Streptococcus pneumoniae*, რეზიტენტულია მათ მიმართ. მაკროლიდებს მიეკუთვნება Erythromycin, Azithromycin, Clarithromycin და სხვა ანტიბიოტიკები (Etebu & Arikekpar, 2016).

ტეტრაციკლინები პირველად 1945 წელს ნიადაგის ბაქტერიის *Streptomyces* გვარისგან ბენჯამინ დუგარმა აღმოაჩინა. კლასის პირელი წარმომადგენელი ქლოროტეტრაციკლინი იგივე აურეომიცინი იყო. ბაქტერიებში ტეტრაციკლინების ანტიბიკრობული აქტივობის სამიზნეს რიბოსომა წარმოადგენს. ცილის სინთეზის დროს ისინი პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში ამინომჟავების დამატების პროცესს არღვევენ. წარსულში ტეტრაციკლინების ფართო გამოყენებამ მიკრობთა დიდ ნაწილს რეზისტენტობა განუვითარა, რაც დღეს სერიოზულ პრობლემას წარმოადგენს (Etebu & Arikekpar, 2016).



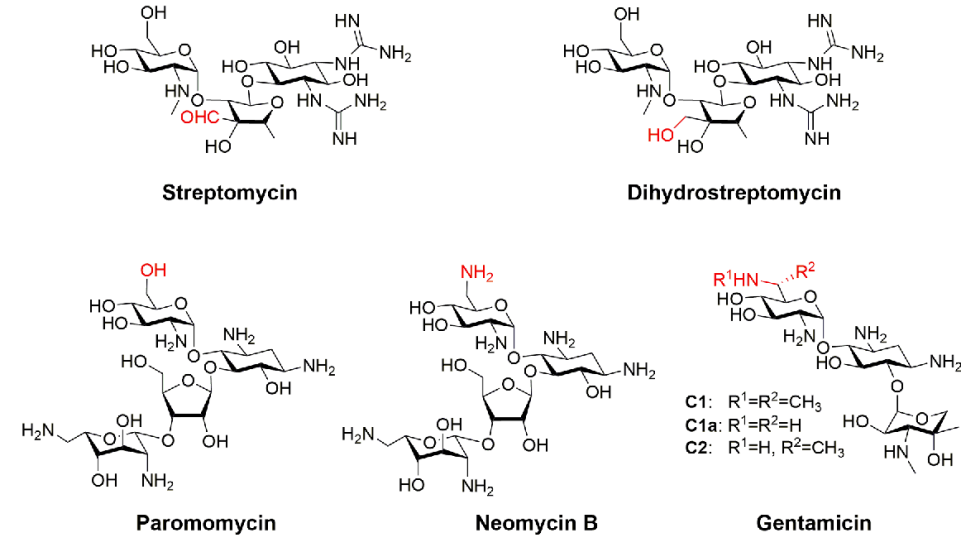
სურათი 5. მაკროლიდური ანტიბიოტიკების მოლეკულური სტრუქტურა.

ქინოლონების კლასი პირველად ნალიდიქსინის მჟავის სახით იქნა აღმოჩენილი, იმ მეცნიერების მიერ, რომლებიც მალარიის საწინააღმდეგო პრეპარატის ძიებაში მონაწილეობდნენ. ქინოლონების კლასის წამომადგენლებს ბაქტერიაში დნმ-ს რეპლიკაციასა და ტრანსკრიფციაში ხელის შეშლა შეუძლიათ. ძირითადი მოლეკულისგან ნაერთთა ორი ჯგუფი, ქინოლონები და ნაფთირიდონებია შემუშავებული, რომელთაც მიეკუთვნება Cinoxacin, Norfloxacin, Ofloxacin, Ciproxacin, Temafloxacin, Sparfloxacin, Enoxacin და სხვა ანტიბიოტიკები. მათი სტრუქტურა ძირითადად ორი რგოლისგანაა წარმოდგენილი, მაგრამ ქინოლონების ბოლო თაობებს დამატებითი რგლებიც გააჩნიათ, რაც საკუთარი ანტიმიკრობული აქტივობის სპექტრის გაფართოვების საშუალებას აძლევს, განსაკუთრებით ანაერობულ ბაქტერიებზე, რომლებიც მანამდე ქინოლონების მიმართ რეზისტნტულები იყვნენ (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 6. ქინოლონების მოლეკულური სტრუქტურა

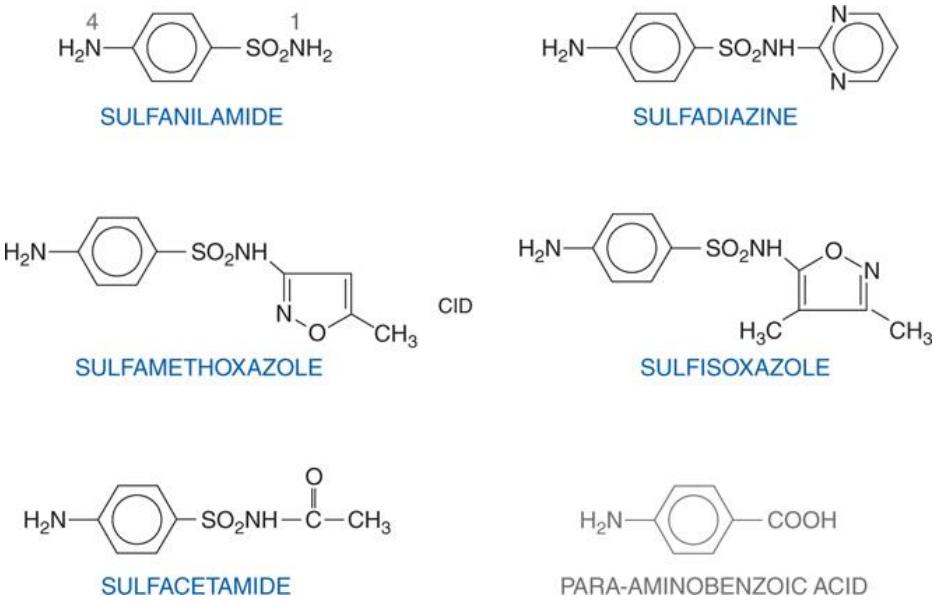
ამინოგლიკოზიდების პირველი წარმომადგენელი იყო სტრეპტომიცინი, რომელიც პირველად 1943 წელს იქნა გამოყოფილი და ფართოდ გამოიყენებოდა ტუბერკულოზის გამომწვევი აგენტის საწინააღმდეგოდ. ამინოგლიკოზიდები ჩვეულებივ 3-ამიო შაქრის ნაერთებია, რომლებიც ერთმანეთთან გლიკოზიდური ბმებითაა დაკავშირებული და ნიადაგის აქტინომიცეტებისგან მიიღებიან. ამინოგლიკოზიდებს ანტიმიკრობული მოქმედების ფართო სპექტრი ახასიათებთ, ისინი უკავშირდებიან ბაქტერიის რიბოსომას და ხელს უშლიან ცილის სინთეზში. ისინი ეფექტურები არიან აერობული, გრამ-უარყოფითი ჩხირებისა და ზოგიერთი გრამ-დადებითი ბაქტერიის წინააღმდეგ (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 7. ამინოგლიკოზიდების მოლეკულური სტრუქტურა

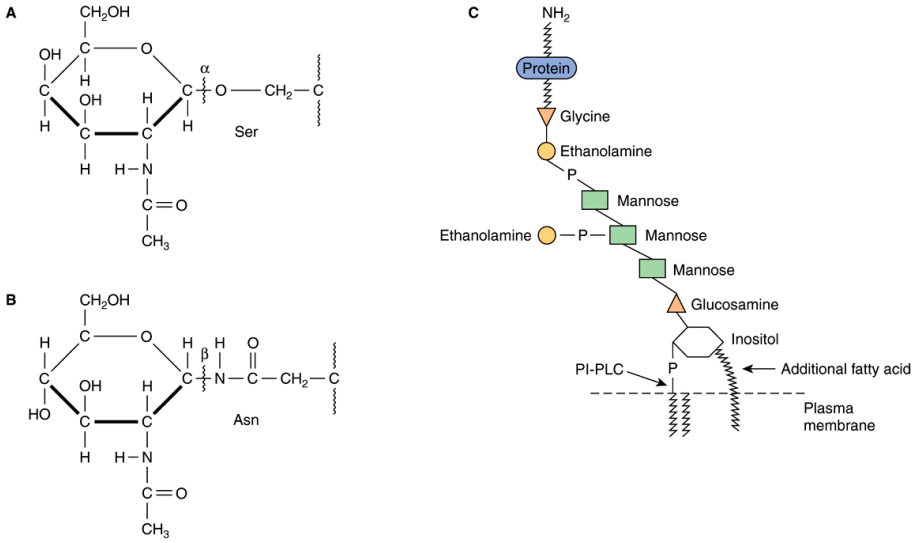
როგორც ცნობილია, სულფონამიდები არის ანტიბიოტიკების პირველი ჯგუფი, რომელიც გამოყენებულ იქნა თერაპიულ მედიცინაში და დღემდე დიდ როლს თამაშოებენ სამედიცინო და

ვეტერინარულ პრაქტიკაში. სულფონამიდები როგორც გრამ-დადებით, ასევე გრამ-უარყოფით ბაქტერიებს აინჰიბირებენ. ზოგადად ითვლება, რომ სულფონამიდები ბაქტერიოსტატიკულები არიან და არა ბაქტერიციდულები, თუმცა ჰენრიმ (1943) თავის ადრეულ ნაშრომში თქვა, რომ სულფონამიდები შეიძლება გახდნენ ბაქტერიციდული, თუ მათი კონცენტრაცია საკმარისად მაღალია, ან თუ რომელიმე სულფონამიდის კონცენტრაციის არსებობას თან ახლავს სხვა გარემო პირობები, რომლებიც არახელსაყრელია ბაქტერიებისთვის (Etebu & Arikekpar, 2016).



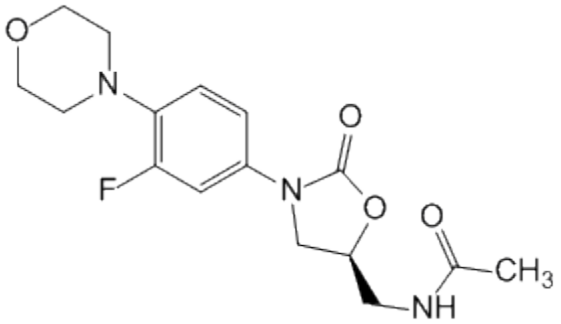
სურათი 8. სულფონამიდების მოლეკულური სტრუქტურა

ბუნებრივად გლიკოპეპტიდები წარმოიქმნება 7 ამინომჟავისაგან შემდგარი ციკლური პეპტიდისგან, რომელთანაც 2 შაქარია შეკრული, სწორედ აქედან გამომდინარეობს მათი სახელწოდებაც. გლიკოპეპტიდები ანტიბიოტიკების კლასია, რომელიც განსაკუთრებით ხშირად გამოიყენება გრამ-დადებითი ბაქტერიებისა და ენტეროკოკული ინფექციების სამკურნალოდ. გლიკოპეპტიდური ანტიბიოტიკები ბაქტერიების უჯრედის კედლის სინთეზის ინჰიბირების გზით მოქმედებენ (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 9. გლიკოპროტეინების მოლეკულური სტრუქტურა

ოქსაზოლიდინონები სინთეზური ანტიბიორიკების ჯგუფია, რომლის წარმომადგენელია ლინეზოლიდი, მისი კლინიკური გამოყენება 2000 წელს იქნა დაშვებული. ოქსაზოლიდინების მოქმედების მექანიზმი ბოლომდე არ არის შესწავლილი, თუმცა როგორც ცნობილი გახდა ისინი ცილების სინთეზის პროცესში ერთვებიან. ისინი უკავშირდებიან 50S რიბოსომული სუბ-ერთეულის P საიტს და ცილის სინთეზს აინჰიბირებენ. მათ გრამ-დადებითი ბაქტერიების, მათ შორის მეტიცილინ-რეზისტენტული სტაფილოკოკების, მიმართ მოქმდების ფართო სპექტრი ახასიათებთ (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 10. ოქსაზოლიდინონების ჯგუფის ანტიბიოტიკის ლინეზოლიდის მოლეკულური სტრუქტურა.

3.3. ანტიბიოტიკების მოქმედების მექანიზმები

ანტიბიოტიკების კლასების უმრავლესობის ანტიმიკრობული პოტენციალი ბაქტერიის უნიკალურ სტრუქტურასთან და მეტაბოლურ პროცესებთანაა დაავშირებული (Etebu & Arikekpar, 2016).

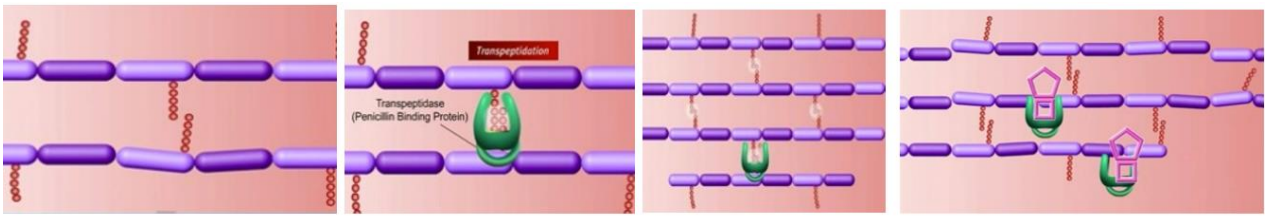
ანტიმიკრობული პრეპარატების მოქმედების ოთხი მექანიზმი არსებობს:

1. უჯრედის კედლის სინთეზის ინჰიბირება;
2. უჯრდის მემბრანის ფუნქციის ინჰიბირება;
3. ცილის სინთეზის ინჰიბირება;
4. ნუკლეინის მჟავების სინთეზის ინჰიბირება (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2019).

<u>3.3.1. უჯრედის კედლის ინჰიბირება</u>

ბაქტერიებს ხისტი გარე შრე, უჯრედს კედელი, გააჩნიათ, რომელიც მიკროორგანიზმს ფორმასა და ზომას უნარჩუნებს. უჯრედის კედელი ქიმიურად განსახვავებულ, კომპლექსურ, პოლიმერულ მუკოპეპტიდს (პეპტიდოგლიკანს) შეიცავს, რომელიც პოლისაქარიდებისაგან და ძლიერ ჯვარედინად დაკავშირებული პოლიპეპტიდისაგან შედგება. პოლისაქარიდები მუდმივად შეიცავენ N-აცეტილგლუკოზამინისა და N-აცეტილმურამის მჟავებს. ეს უკანასკნელი კი მხოლოდ ბაქტერიებში გვხვდება. ამიოშაქრებთან მოკლე პეპტიდური ჯაჭვებია დაკავშირებული. უჯრედის კედელს საბოლოო სიმტკიცეს პეპტიდურ ჯაჭვებს შორის არსებული ჯვარედინი კავშირები ანიჭებს, რომლებსაც გარკვეული ფერმენტები ტრანსპეპტიდაციის რეაქციის შედეგად ამყარებენ. ანტიმიკრობული პრეპარატის მოქმედების პირველ ნაბიჯს მისი უჯრედულ რეცეპტორებთან (პენიცილინ დამაკავშირებელ ცილებთან - PBPs) დაკავშირება წარმოადგენს. მას შემდეგ რაც, ბეტა-ლაქტამური ანტიბიოტიკი ერთ ან რამდენიმე რეცეპტორს დაუკავშირდება, ტრანსპეპტიდაციის რეაქცია ინჰიბირდება და პეპტიდოგლიკანის სინთეზი იბლოკება. შემდეგი ეტაპი, სავარაუდოდ, უჯრედის კედელში აუტოლიზური ფერმენტების ინჰიბიტორის მოცილებას ან ინაქტივაციას მოიცავს. ეს ლიზისურ ფერმენტს ააქტიურებს, რისი

მოქმედების შედეგადაც ხდება ლიზისი იმ შემთხვევაში თუ გარემო იზოტონურია. მკვეთრად ჰიპერტონულ გარემოში მიკრობები პროტოპლასტებად ან სფეროპლასტებად გარდაიქმნებიან, რომლებიც მხოლოდ თხელი მემბრანით არიან დაფარულნი. ასეთ უჯრედებში ცილებისა და ნუკლეინის მჟავების სინთეზი გარკვეული დროის განმავლობაში შეიძლება კვლავ გაგრძელდეს (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2019).

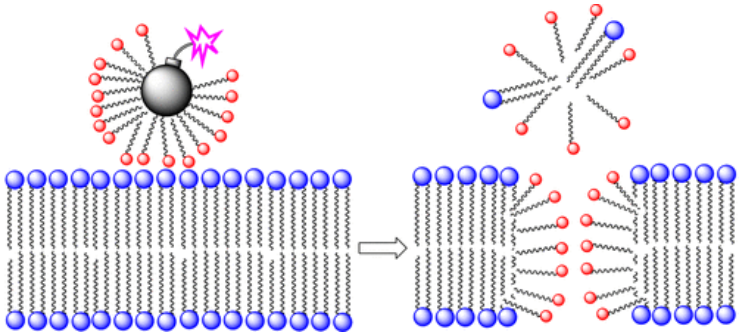


a b c d

სურათი 11. უჯრედული კედლის სინთეზის მოშლა. a - უჯრედის კედლის შრეების დაკავშირება პროტეინული ჯაჭვებით; b, c - ფერმენტი ტრანსპეპტიდაზა მონაწილეობს პეპტიდურ ჯაჭვების ჯვარედინ დაკავშირებაში; d - ბეტა-ლაქტამური რგოლი სწორედ ტრანსპეპტიდაზის დავაშირების საიტს იკავებს, რაც მისი და ტრაბსპეპტიდაზის სივრცული კონფიგურაციის მსგავსებით მიიღწევა (ვარდისფერი ობიექტები არის ბეტა-ლაქტამის რგოლები).

<u>3.3.2. უჯრედის მემრანის ფუნქციის ინჰიბირება</u>

ყველა ცოცხალი უჯრედის ციტოპლაზმა შემოსაზღვრულია პლაზმური მემბრანით, რომელიც მოქმედებს როგორც სელექტიურად გამტარი ბარიერი და აქტიური ტრანსპორტის განმახორციელებელი, რის გამოც უჯრედის შედა შემადგენლობა მასზეა დამოკიდებული. თუ ციტოპლაზმური მემბრანის მთლიანობა დარღვეულია, მაკრომოლეკულები და იონები გამოდიან გარეთ, რასაც უჯრედის დაზიანება ან სიკვდილი მოჰყვება. ბაქტერიებისა და სოკოების უჯრედის მემბრანას ცხოველური უჯრედის მემბრანისგან განსხვავებული სტრუქტურა აქვს და შესაძლოა უფრო მარტივად დაზიანდეს გარკვლეული აგენტების მოქმედების შედეგად. დეტერგენტები, რომლებიც ლიპოფილური და ჰიდროფილურ ჯგუფებს შეიცავენ, არღვევენ პლაზმურ მემრანასა და კლავენ უჯრედს. ანტიბიოტიკების ერთ-ერთი კლასი, პოლიმიქსინები, ციკლური პეპტიდებს შეიცავენ, რომელბიც სელექტიურად აზიანებენ ბაქტერული მემბრანის ძირითადი კომპონენტის, ფოსფატიდილეთანოლამინის, შემცველ მემრანებს (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2019).



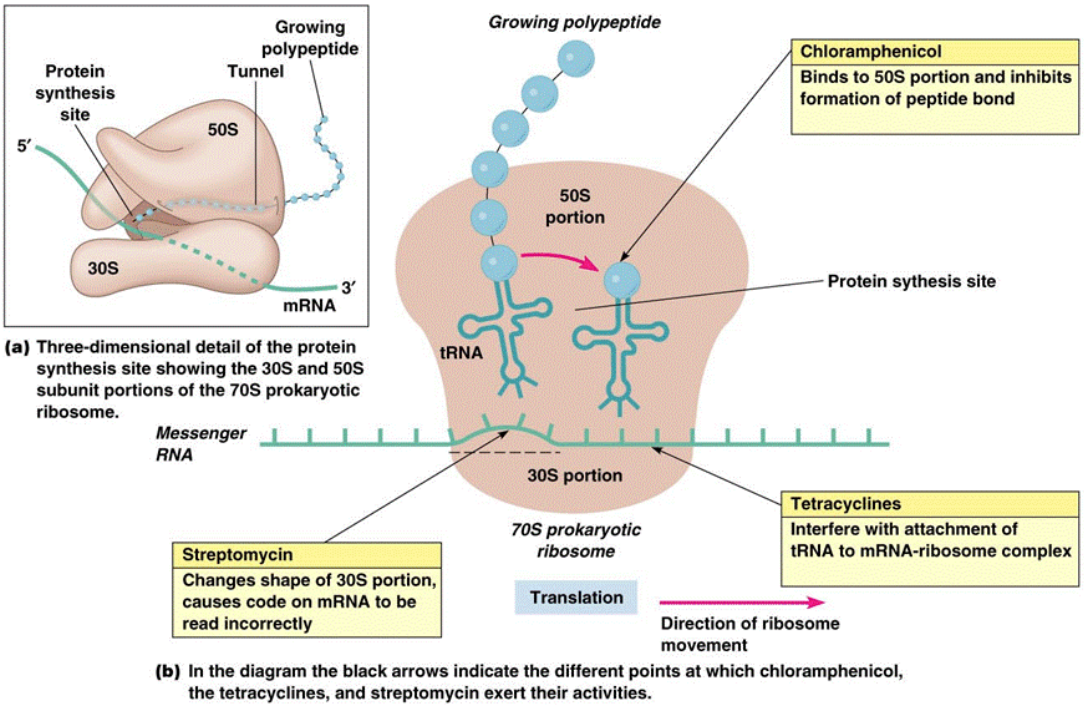
სურათი 12. ანტიბიოტიკით ინდუცირებული მემბრანის რღვევა

დაპტომიცინი არის ციკლური 13-წევრიანი ლიპოპეპტიდური ანტიბიოტიკი, რომელიც სწრაფი ბაქტერიციდულობით გამოირჩევა. კალციუმის იონებზე დამოკიდბული გზით ის უკავშირდება უჯრეიდ მემბრანასა და მისი მემბრანული პოტენციალის დეპოლარიზაციას იწვევს. შედეგად

ხდება უჯრედშიდა კალიუმის გამოყოფა, რასაც უჯრედი სიკვდილამდე მიჰყავს (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2019).

3.3.3. ცილის სინთეზის ინჰიბირება

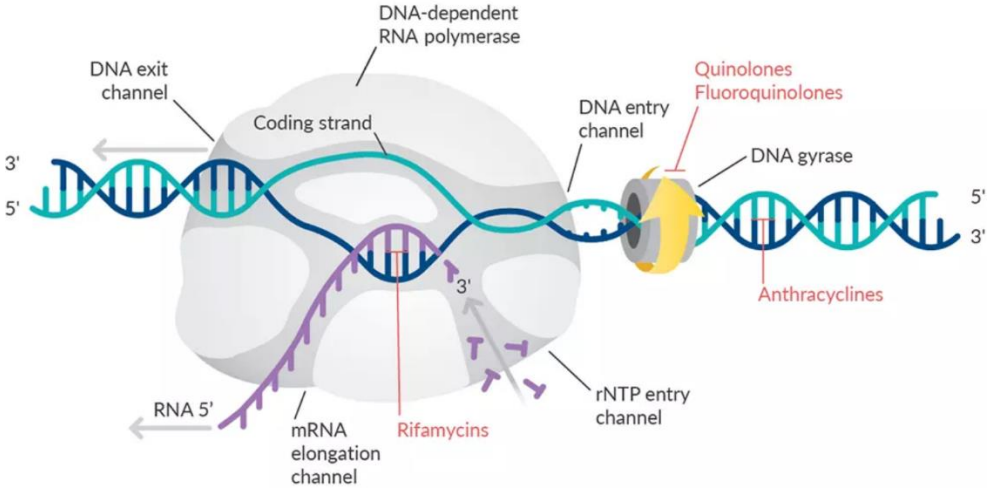
ანტიბიოტიკები, როგორებიცაა ერითრომიცინი, კლინდამიცინი, ლინკომიცინი, ლინეზოლიდი და სხვები, როგორც აღმოჩნდა 50S რიბოსომული სუბერთეულის ინჰიბიტორებს წარმოადგენენ. ზოგადად, ანტიბიოტიკები, რომლებიც 50S რიბოსომის ინჰიბირებას ახდენენ ცილის ტრანსლაციის ინიციაციის ან სინთეზის ელონგაციის პროცესს ბლოკავენ. ანტიბიოტიკების მაგალითი, რომლებიც ცილის ტრანსალციის ინიციაციას ბლოკავენ, არის ოქსაზოლიდინონების წარმომადგენლები. მაკროლიდები, როგორებიცაა ლინკოსამიდი და სტრეპტოგრამინი მატრიცული რნმ-ს ელონგაციის ფაზის ინჰიბირებით ცილის სინთეზს ბლოკავენ. თუმცა ანტიბიოტიკების ეს უკანასკნელი ჯგუფი არაეფექტურია თუ ელოგაცის პროცესი კრიტიკულ სიგრძეს გასცდა. 30S რიბოსომული რნმ-ს ინჰიბიტორები ძირითადად, ამინოაცილ-ტრანსპორტული რნმ-ების რობოსომაზე წვდომას ბლოკავენ. ანტიბიოტიკებს რომლებიც ამ გზით მოქმედებენ მიეკუთვნება ტეტრაციკლინი, სტრეპტომიცინი, სპექცინომიცინი და სხვა (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 13. ანტიბიოტიკების მიერ ცილის სინთეზის ინჰიბირების მექანიზმი.

3.3.4. ნუკლეინის მჟავების სინთეზის ინჰიბირება

ანტიბიოტიკებს რომლებიც ნუკლეინის მჟავების სინთეზის ინჰიბირებით მოქმედებენ ქუინოლონები, პირიმეტამინი, რიფამპინი, სულფონამიდები, ტრიმეტოპრინი და ტრიმეტრექსატი მიეკუთვნება. რიფამპინი დნმ-დამოკიდებულ რნმ პოლიმერაზას მჭიდროდ შებოჭვით ბაქტერის ზრდას აინჰიბირებს. ამრიგად ის ბაქტერიული რნმ-ს სინთეზს აინჰიბირებს. ქრომოსომული მუტაციის გამო, რომელიც მაღალი სიხშირით ხდება, რნმ პოლიმეაზის ცვლილება იწვევს რეზისტენტობას რიფამპინის მიმართ (Etebu & Arikekpar, 2016).



სურათი 14. ნუკლეინის მჟავების სინთეზის ინჰიბირების მექანიზმი.

ყველა ქუინოლონი და ფლუოროქუინოლონი დნმ გირაზების ბლოკირებით მიკრობული დეზოქსირიბონუკლინის მჟავის სინთეზს აინჰიბირებენ (დნმ გირასები ტოპოიზომერაზების კლასის ფერმენტებს მიეკუთვნება, რომლებიც დნმ-ს რეპლიკაციასა და რეპარაციაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ). მიკრობთა დიდი ნაწილისთვის P-ამინობენზონის (PABA) მჟავა აუცილებელი მეტაბოლიტია. PABA ფოლიუმის მჟვაის სინთეზში მონაწილეობს, ეს უკანასკნელი კი ნუკლეინის მჟავის სინთეზისთვის მნიშვნელოვან წინამორბედს წარმოადგენს. სულფონამიდები წარმოადგენენ PABA-ს სტრუქტურულ ანალოგს და დიჰიდროპტეროატ სინთეთაზას ინჰიბირებით ფოლიუმის მჟავის წარმოქმნას უშლიან ხელს. სულფონამიდებს რეაქციაში PABA-ს ნაცვლად შესვლა და ფერმენტის აქტიური ცენტრისთვის კონკურენციის გაწევა შეუძლიათ (Etebu & Arikekpar, 2016).

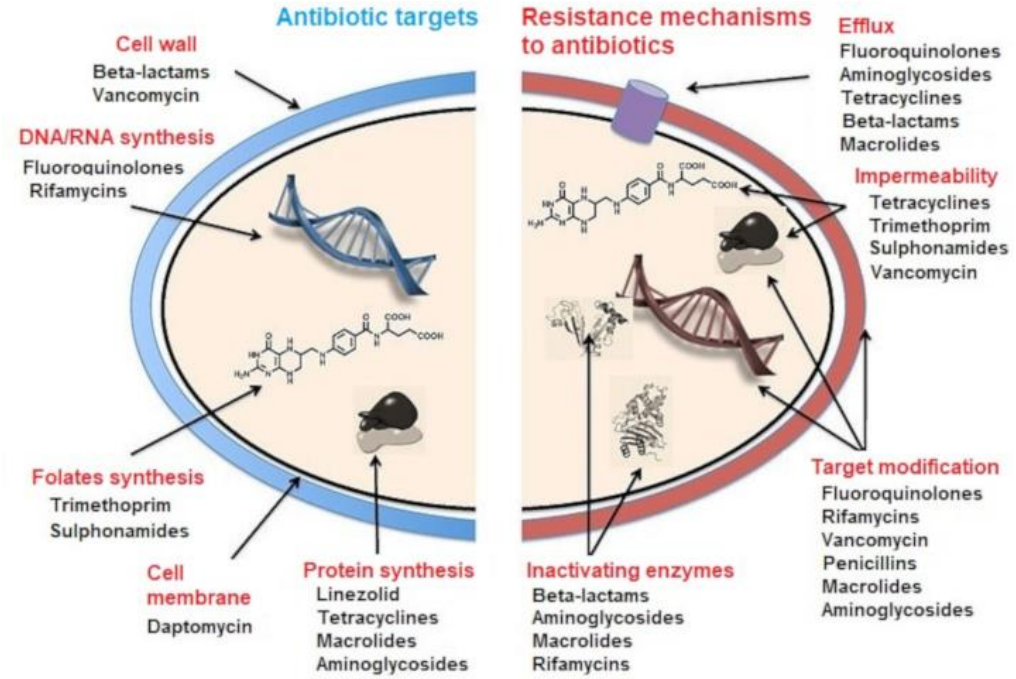
3.4. ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის განვითარების მექანიზმები

არსებობს მრავალი განსხვავებული გზა, რომლითაც მიკროორგანიზმებს ანტიბიოტიკების მიმართ რზისტენტობის განვითარება შეუძლიათ.

1. მიკროორგანიზმები წარმოქმნიან ფერმენტებს, რომელთაც აქტიური ნივთიერების განადგურება შეუძლიათ. მაგალითად პენიცილინ G-ის მიმართ რეზისტენტული სტაფილოკოკები ფერმენტ ბეტა-ლაქტამაზას წარმოქმნიან, რომელსაც ანტიბიოტიკის განადგურება, დაშლა, შეუძლია. სხვა ბეტა-ლაქტამაზები ასევე წარმოიქმნება გრამ-უარყოითი ჩხირების მიერ. ამინოგლიკოზიდების მიმართ რეზისტენტული გრამ-უარყოფითი ბაქტერიები ადენილატორ, მაფოსფორილირებელ ან მააცეტილირებელ ფერმენტებს წარმოქმნიან, რომლებიც ანტიბიოტიკს ანადგურებენ.
2. მიკროორგანიზმები ცვლიან საკუთარ გამტარებლობას ანტიბიოტიკის მიმართ. მაგალითად, ტეტრაციკლინის აკუმულირება მგრძნობიარე ბაქტერიებში ხდება, მაგრამ რეზისტენტულებში არა. პოლიმიქსინების მიმართ რეზისტენტობა ასევე წამლის მიმართ ამტარებლობის ცვლილებასთანაა დაკაშირებული. სტრეპტოკოკებს ამინოგლიკოზიდების მიმართ გამტარებლობის ბუნებრივი ბარიერი გააჩნიათ. ეს შესაძლოა უჯრედის კედლის მიმართ აქტიური ანტიბიოტიკის მაგალითად პენიცილინის თანადროული არსებობით დაიძლიოს. ამიკაცინისა და სხვა ამინოგლიკოზიდების მიმართ რეზისტენტობა შესაძლოა

უჯრედის გარეთა შრის ცვლილებით გამოწვეული განვლადობის სიმცირეზე, რაც აფერხებს უჯრედში ანტიბიოტიკის აქტიურ ტრანსპორტირებას.

3. რეზისტენტობის განვითარების ერთ-ერთ მექანიზმს მიკროორგანიზმების მიერ ანტიბიოტიკის სტრუქტურული სამიზნის ცვლილებაა. მაგალითად, ერითრომიცინ-რეზისტენტულ ორგანიზმებს 50S რიბოსომულ სუბერთეულზე შეცვლილი რეცეპტორი გააჩნიათ, რაც 23S რიბოსომული რნმ-ს მეთილირებით მიიღწევა. პენიცილინებისა და ცეფალოსპორინების მიმართ რეზისტენტობა შესაძლოა PBP-ების ცვლილებით ან დაკარგვით იყოს გამოწვეული.
4. მიკროორგანიზმებს შეცვლილი მეტაბოლური გზის ჩამოყალიბება შეუძლიათ, რომელიც ანტიბიოტიკის მიერ ინჰიბირებული რეაქციას გვერდს აუვლის. მაგალითად, ზოგიერთ სულფონამიდ-რეზოსტენტულ ბაქტერიას ექსტრაცელულარული PABA არ ესაჭიროვება, რადგან, ცხოველური უჯრედების მსგავსად, უკვე ჩამოყალიბებული ფოლიუმის მჟავის გამოყენება შეუძლიათ
5. მიკროორანიზმებს შეცვლილი ფერმენტის ჩამოყალიბება შეუძლიათ, რომელიც მაინც ასრულებს თავის მეტაბოლურ ფუნქციას, თუმცა ანტიბიოტიკის მოქმედების მიმართ ნაკლებად მგრძნობიარეა. მაგალითად, ტრიმეტროპინ-რეზისტენტულ ბაქტერიებში სენსიტიურებთან შედარებით დიჰიდრო ფოლიუმის მჟავის რედუქტაზა უფრო ნაკლებადაა ინჰიბირებული.
6. მიკროორგანიზმების მიერ ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობის განითარების კიდევ ერთ გზას ე.წ. გადინების ტუმბოების (efflux pumps) ჩამოყალიბება წარმოადგენს. მრავალმა გრამ-დადებითმა და განსაკუთრებით გრამ-უარყოფითმა ორგანიზმმა ტეტრაციკლინების, მაკროლიდების, ფლუოროქუინონებისა და ბეტა-ლაქტამების მიმართაც კი განივითარა ეს მექანიზმი (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2019).



სურათი 15. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბების მექანიზმები.

3.5. ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გლობალური პრობლემა და მისი გადაჭრის გზები

ბაქტერიულ ინფექციებთან ბრძოლის ყველაზე გავრცელებულ გზას ანტიბიოტიკებით მკურნალობა წარმოადგენს, თუმცა დღესდღეობით ამ პრეპარატების ზედმეტმა და არასწორმა მოხმარებამ ბაქტერიებში (მათ შორის S. *aureus*-ში) ანტიბიოტიკორეზისტენტობის ჩამოყალიბება გამოიწვია. ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტულ პათოგენებთან ბრძოლა წარმოადგენს თანამედროვე მედიცინისა და საზოგადოებრივი ჯანდაცვის ერთ-ერთ გლობალურ გამოწვევას (World Health Organization, 2020).

ასეთი შტამების წარმოქმნას ასევე განაპირობებს, შემდგომში ხორცპროდუქტებად გამოყენებული, ცხოველების მოსაშენებლად ანტიბიოტიკების ინტენსიური მოხმარება. ქათმებისგან აღებული ნაზოფარინგეალური ნიმუშებიდან 3,4% S. *aureus*-ზე დადებითი აღმოჩნდა, შტამების ნახევარზე მეტი (54%) რეზისტენტული აღმოჩნდა პენიცილინის, 29% ტეტრაციკლინის, 23,5% ერითრომიცინის, ხოლო 17 % ციპროფლოქსაცინის მიმართ (Mourabit, Arakrak, Bakkali, & Zian, 2021).

S. *aureus*-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენული შტამების მიერ გამოწვეულმა ინფექციებმა უკვე მიაღწია ეპიდემიურ მასშტაბებს გლობალურად. ჩატარებული კველევბი გვიჩვენებს, რომ 2019 წელს ბაქტერიების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო მსოფლიოს მასშტაბით 4,95 მილიონი ადამიანი გარდაიცვალა, რაც ამ პრობლემას სიკვდილის მე-3 ყველაზე გავრცელებულ მიზეზად აქცევს. აღნიშნული მონაცემების მიხედვით მეცნიერები ვარაუდობენ, რომ 2050 წლისთვის, ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გამო, ყოველწლიურად 10 მილიონამდე ადამიანი დაიღუპება (C. J. L. Murray et al., 2022). სტაფილოკოკის ანტიბიოტიკო-რეზისტენტულ ვარიანტებს შორის განსაკუთრებით საშიშია მეტიცილინ-რეზისტენტული ოქროსფერი სტაფილოკოკი (Meticillin-resistant S. *aureus*-- MRSA), რადგან მეტიცილინი ყველაზე ბოლო თაობის ანტიბიოტიკია და შესაბამისად მის მიმართ რეზისტენტობა თერაპიული არსენალის გამოლევას ნიშნავს (C. J. L. Murray et al., 2022).

აღნიშნულიდან გამომდინარე, საჭიროა S. *aureus*-ის ინფექციის ალტერნატიული სამკურნალო საშუალების ძიება, რომელიც არ გამოიწვევს ბაქტერიებში ანტიბიოტიკორეზისტენტობის განვითარებასა და შესაბამისად მათ გაძლიერებას. პრობლემის გადაჭრის ერთ-ერთ გზას წარმოადგენს ფაგოთერაპია ანუ S. *aureus* სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების, ბაქტერიის ვირუსის, გამოყენება ინფექციის საწინააღმდეგოდ. მეოცე საუკუნის პირველ ნახევარში ბაქტერიოფაგული პრეპარატების თერაპიაში გამოყენების იდეის ავტორი ფრანგი მეცნიერი ფელიქს დერელი იყო, რომელმაც პროფესორ გიორგი ელიავასთან ერთად ფაგოთერაპიიას საფუძველი საქართველოში ჩაუყარა და ეს გამოცდილება მალევე გავრცელდა ისეთ ქვეყნებში, როგორიცაა რუსეთი, უკრაინა და პოლონეთი, სადაც განვითარდა ფაგის შემცველი საშუალებების წარმოება და მათი მკურნალობასა და პროფილაქტიკაში გამოყენების ტრადიცია (Chanishvili, 2016); (Gelman, et al., 2018). თუმცა მე-20 საუკუნის 20-იან წლებში ფაგების აღმოჩენას 40-იან წლებში მალევე მჰოყვა ანტიბიოტიკების აღმოჩენაც, რომელმაც დასავლეთში მთლიანად ჩაანაცვლა ფაგოთერაპია. ანტიბიოტიკებს, სტანდარტული წარმოების ჩამოყალიბების და სწრაფი და თვალსაჩინო თერაპიული შედეგის გამო, ფაგებთან შედარებით უპირატესობა აღმოაჩნდათ. თუმცა, მას შემდეგ, რაც რეზისტენტული პათოგენებით გამოწვეული ინფექციები გლობალური ჯანდაცვის პრობლემად იქცა, საჭირო გახდა ანტიბიოტიკების ალტერნატიული ანტიმიკრობული საშუალებების მოძიება. შესაბამისად, რიგ ქვეყენებში ფაგური პრეპარატების გამოყენების პრაქტიკამ და მრავალწლიანმა გამოცდილებამ კვლავ მიიპყრო სათანადო ყურადღება. გაზრდილი საერთაშორისო და სამედიცინო ინტერესის შედეგად, იმატა კვლევების რაოდენობამ,

რომელიც რეზისტენტული პათოგენების მიმართ ბაქტერიოფაგების გამოყოფასა და მათი თერაპიული პოტენციალის შეფასებას ეძღვნება (Chanishvili, 2016); (Gelman, et al., 2018).

პროექტის მიზანია გ.ელიავას სახ. ბაქტერიოფაგიის, მიკრობიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის ინსტიტუტის კოლექციაში არსებული S. *aureus*-ის მიმართ აქტიური ბაქტერიოფაგების დახასიათება და ანტიბიოტიკორეზისტენტული იზოლატების მიმართ მათი ეფექტურობის შესწავლა.

თავი4. ბაქტერიოფაგები

4.1. ბაქტერიოფაგების ზოგადი დახასიათება

ბაქტერიოფაგები (ბერძ. bacterio ჩხირი, phagos-მშთანთქმელი) არიან ბაქტერიის ვირუსები, რომლებიც ფართოდ არიან გავრცელებული ბუნებაში და ვირუსების ყველაზე მრავალფეროვან ჯგუფს წარმოადგენენ. 1915 წელს ინგლისელმა ბაქტერიოლოგმა, ფრედერიკ ტუორტმა, აღწერა ბაქტერიის კოლონიების მინისებრი გარდაქმნა და ივარაუდა რომ ამის მიზეზი შესაძლოა ყოფილიყო ფერმენტი ან ბაქტერიის დამაზიანებელი აგენტი. თუმცა ბაქტერიოფაგიის მოძღვრების ფუძემდებლად, ფრანგი მეცნიერი, ფელიქს დ'ჰერელი ითვლება, რომელმაც 1917 წელს გამოაქვეყნა ნაშრომი ბაქტერიის დამშლელი აგენტის აღმოჩენის შესახებ. ბაქტერიოფაგების კვლევაში დიდი წვლილი შეიტანა ქართველმა მეცნიერმა გიორგი ელიავამ, რომელმაც 1915 წელს შენიშნა *Vibrio cholerae*-ს თვითლიზისის მოვლენა და შეისწავლა ბაქტერიოფაგიის ფენომენი (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

როგორც უკვე ავღნიშნეთ ბაქტერიოფაგები წარმოადგენენ ბაქტერიის ვირუსებს, რომლებიც მხოლოდ ბაქტერიებს აინფიცირებენ. თითოეულ მათგანს გადააქვს საკუთარი გენომი ბაქტერიაში, რათა მოხდეს უფრო მეტი ფაგის პროდუცირება. ბაქტერიოფაგების გენეტიკური ინფორმაცია წარმოდგენილია დნმ-სა (რომელიც შესაძლებელია იყოს, როგორც ორჯაჭვიანი, ისე ერთჯაჭვიანი) ან რნმ-ს სახით, რომელიც მოთავსებულია ცილოვან ან ლიპოპროტეინულ გარსში, კაფსიდში. ნუკლეინის მჟავასა და კაფსიდს ერთად ნუკლეოკაფსიდი ეწოდება (Kutter & Sulakvelidze, 2004)

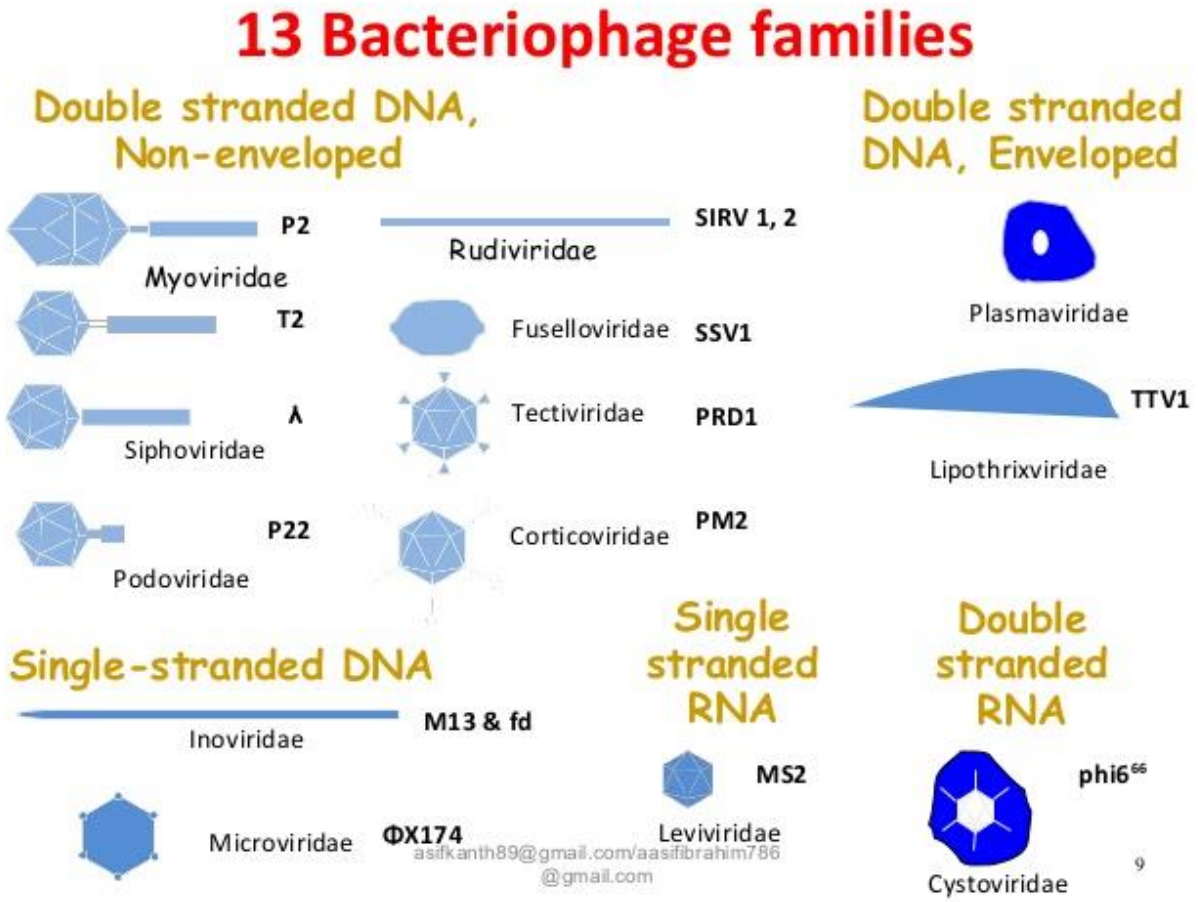
ფაგები, ისევე როგორც ყველა სხვა ვირუსი, აბსოლიტური პარაზიტები არიან. მიუხედავად იმისა, რომ ისინი მასპინძლის უჯრედში საკუთარი თავის რეპროდუქციისთვის ყველა საჭირო ინფორმაციას ატარებენ, მათ არ გააჩნიათ მექანიზმი ენერგიის გენერირებისთვის და არ აქვთ რიბოსომები ცილების წარმოსაქმნელად. მათი სპეციფიკურობის მაღალი დონე, სიცოცხლის დიდი ხანგრძლივობა და შესაბამის მასპინძელში სწრაფად გამრავლების უნარი ხელს უწყობს მათ, რომ ნებისმიერ ეკოსისტემაში, ბაქტერიების მრავალ სახეობას შორის დინამიური ბალანსი შეინარჩუნონ. შესაბამისი მასპინძლის არ არსებობის პირობებში, მრავალ ბაქტერიოფაგს ათწლეულების განმავლობაში ინფიცირების უნარის შენარჩუნება შეუძლია (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

მორფოლოგიურად ბაქტერიოფაგების შესაძლოა დავყოთ კუდის მქონე, კუბურ, ფილამენტურ ან პლეომორფულ ფაგებად. ბაქტერიოფაგების დიდი ნაწილი შედგება თავისგან ანუ კაფსიდისა და კუდისგან, თუმცა შესაძლოა გააჩნდეთ დამატებითი სტრუქტურებიც, როგორებიცაა საყელო, ბაზალური ფირფიტა და ფიბრილები. დღესდეობით ყველაზე უკეთ T4 ფაგია შესწავლილი (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

ცხოვრების წესის მიხედვით ბაქტერიოფაგები შესაძლოა ორ კლასად დაიყოს: ვირულენტურ და ზომიერ ფაგებად. ვირულენტურ ფაგებს გამრავლება მხოლოდ ლითიური ციკლის შედეგად შეუძლიათ, რომლის დროსაც ფაგის ვირიონი მასპინძლის უჯრედზე ადსორბირდება და მასში საკუთარ გენომს შეიყვანს, რის შედეგადაც ის იპყობს მასპინძლის მეტაბოლიზმს და მის მოლეკულურ მექანიზმს მეტი ბაქტერიოფაგის შესაქმნელად იყენებს. რამდენიმე წუთის ან საათის შემდეგ მასპინძელი უჯრედი იშლება, რასაც ახლად წარმოქმნილი ვირუსული ნაწილაკების გამოთავისუფლება მოჰყვება. ამის საპირისპიროდ, ზომიერ ფაგებს, მასპინძლის ინფიცირებისას, რეპროდუქციული რეჟიმის ორი არჩევანი გააჩნიათ, ესენია ლითიური და ლიზოგენური გზები. ზოგიერთ შემთხვევაში ზომიერი ფაგი ლითიურ ციკლს იწყებს, რასაც მასპინძელი უჯრეიდს დაშლა და ფაგების გამოთავისუფლება მოჰყვება, თუმცა ფაგმა შესაძლოა აირჩიოს ლიზოგენური გზა, რომლის დროსაც მისი გენომი ინტეგრირდება მასპინძლის გენომთან ან პლაზმიდის სახით შენარჩუნდება, ბაქტერიოფაგის ამგვარ "მდუმარე" მდგომარეობას პროფაგი ეწოდება. ლიზოგენური ფაგი "მდუმარე" მდგომარეობაში განუსაზღვრელი ვადით რჩება და მასპინძლთან ერთად რეპლიცირდება, რის შედეგადაც წარმოიქმნება შვილეულ უჯრედთა კლონები, რომელთაგან ყველა შეიცავს პროფაგს. ასეთ უჯრედს ლიზოგენური ან ლიზოგენიზირებული ეწოდება, რადგან დრო და დრო პროფაგი გამოვა მდუმარე მდგომარეობიდან და ლითიურ ციკლს დაიწყებს (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

4.2. ბაქტერიოფაგების კლასიფიაკცია

ბაქტერიოფაგები მათი სტრუქტურული, ფიზიკო-ქიმიური და ბიოლოგიური თავისებურბებიდან გამომდინარე უკიდურესად ჰეტეროგენურები არიან, რაც მათ პოლიფილეტურ წარმოშობაზე მეტყველებს. ვირიონები შესაძლებელია იყოს კუდიანი, მრავალწახნაგოვანი, ძაფისებრი და პლეომორფული. ფაგების უმრავლსობა ორჯაჭვიან დნმ-ს შეიცავს, თუმცა ზოგიერთ ჯგუფში, როგორც ერთჯაჭვიანი დნმ, ისე ერთი და ორჯაჭვიანი რნმ-ებია აღმოჩენილი. ყველა დნმ შემცველ ბაქტერიოფაგს მისი მხოლოდ ერთი მოლეკულა გააჩნია. ბაქტერიოფაგების ზოგიერთ ტიპს ლიპიდების შემცველი ჩანართები ან შიდა ვეზიკულები გააჩნია. ელექტრონული მიკროსკოპიის გამოყენებით 5000-ზე მეტი ბაქტერიოფაგია შესწავლილი, რაც მათ ამ მეთოდით გამოკვლეული ვირუსების ყველაზე დიდ ჯგუფად აქცევს. ბაქტერიოფაგები კლასიფიცირდება 1 რიგად, 13 ოჯახად და 31 გვარად. ოჯახები ძირითადად ფაგის ნუკლეინის მჟავის ბუნებითა და ვირიონების ზოგადი მორფოლოგიით განისაზღვრება. მიუხედავად იმისა, რომ კლასიფიკაციისვის დაახლოებით 40 კრიტერიუმი გამოიყენება, რიგისა და სახეობის მახასიათებლები არ არსბობს (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

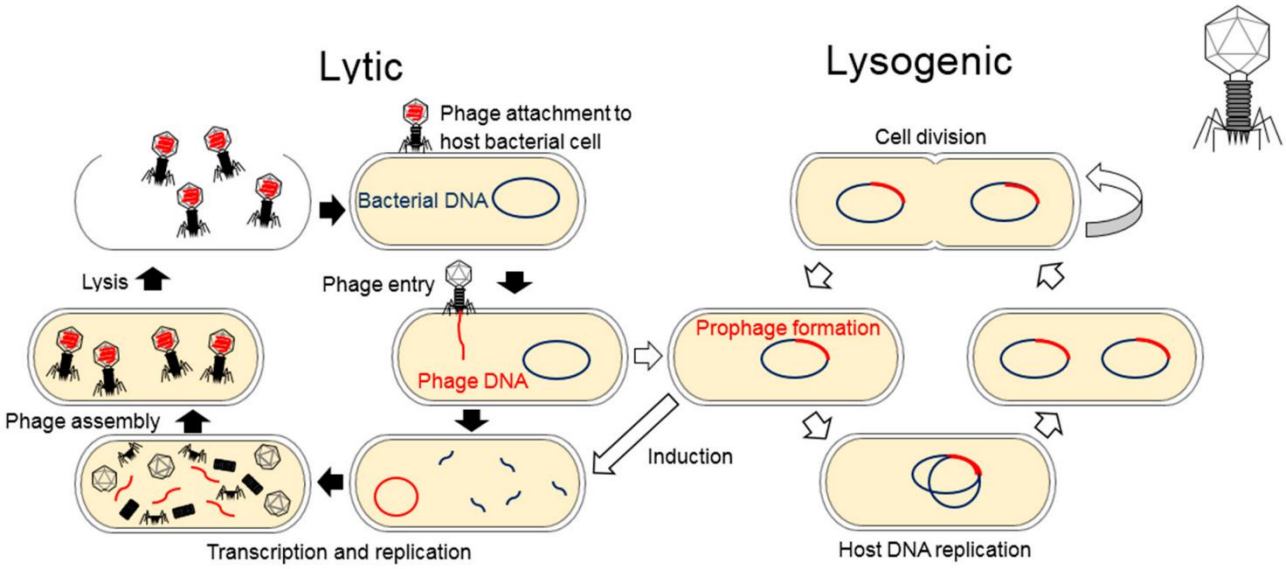


სურათი 16. ბაქტერიოფაგების მორფოლოგიური კლასიფიკაცია.

ბაქტერიული ვირუსების ყველაზე დიდი და გავრცელებულ ჯგუფს კუდიანი ფაგები (Caudovirales - ლათინურად cauda, კუდი) წარმოადგენენ, რომელთაგან, სულ მცირე, 4950 ელექტრონული მიკროსკოპიითაა შესწავლილი. კუდიანი ფაგები შესაძლოა იყვნენ უძველესი ვირუსები, რომლებიც 3,5 მილიარდი წლით დათარიღდებიან (უძველესი მიკრობული ნაშთის მიახლოებითი ასაკი). ტიპიური კუდიანი ფაგები აინფიცირებენ, როგორც ეუბაქტერიებს, ისე არქეებს. ვირიონები მხოლო ცილოვანი გარსისგან და ხაზოვანი ორჯაჭვიანი დნმ-სგან შედგება. ფაგური ნაწილაკები დაფარული არ არის და ბინარული სიმეტრია აქვს, რადგან მათი თავები (კაფსიდები) კუბური ხოლო კუდები სპირალური სიმეტრიისაა. მათი კაფსიდი იკოსადრულია და კაფსომრებისგან შედგება (5-6 ცილოვანი ერთეული). ფაგის კუდები სპირალურია, რომლებიც ერთმანეთზე დაწყობილი დისკებისგან შედგება და როგორც წესი ადსორბციის ტერმინალური სტრუქტურები, ბაზალური ფირფიტა, წვერები და ფიბრილები გააჩნიათ (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

კუდიანი ფაგი შესაძლოა ვირულენტური ან ზომიერი იყოს. ვირულენტური ბაქტერიოფაგები სწრაფად მრავლდებიან და ანადგურებენ მათ მასპინძელს, რაც შვილეული ვირუსების გამოთავისუფლებით მთავრდება. თუმცა ზომიერ ფაგებს ლიზოგენიის სახელით ცნობილი მოვლენის განვითარება შეუძლიათ, ისინი გადადიან ლატენტურ ან პროფაგურ მდგომარეობაში და მასპინძელთან ერთად რეპროდუცირდებიან, თუმცა ზოგიერთ შემთხვევაში შესაძლოა ინფექციური ფაგების შთამომავლობა წარმოქმნან. ზომირ ფაგებს, რომლებიც კუდიანი ფაგების

50%-ზე მეტს წარმოადგნენ, აქვთ უნარი ინფიცირებულ ბაქტერიას მიანიჭონ ახალი უნარი, ამ მოვლენას ლიზოგენური კონვერსია ეწოდება (Kutter & Sulakvelidze, 2004).



სურათი 17. ფაგების სასიცოცხლო ციკლი: ვირულენტური (მარცხნივ) და ლიზოგენური (მარჯვნივ).

კუდიანი ფაგები, როგორც ჩანს, წარმოადგენენ მონოფილეტურ ევოლუციურ ჯგუფს, რომელსაც გააჩნია მკაფიოდ დაკავშირებული მორფოლოგიური, ფიზიკო-ქიმიური და ფიზიოლოგიური თვისებები, ამიტომ ისინი კლასიფიცირდნენ როგორც ერთი რიგი Caudovirales. კუდიანი ფაგების თვისებები მრავალფეროვანია, მაგალითად, მათი ზომები და სტრუქტურა, დნმ-ის მოლეკულის შემადგენლობა და კომპოზიცია, ცილების ბუნება, სეროლოგია და ფიზიოლოგია. მაშასადამე კუდიანი ფაგები ვირუსების ყველაზე მრავალრიცხოვან, მრავალფეროვან და ფართოდ გავრცელებულ ჯგუფს წარმოადგენენ. კუდის სტრუქტურის მიხედვით კუდიანი ფაგები იყოფა სამ ოჯახად:

- Myoviridae - კუმშვადი კუდის მქონე, რომელიც შეიცავს გარსსა და ცენტრალურ მილს (კუდიანი ფაგების 25%);
- Siphoviridae - გრძელი, არაკუმშვადი კუდით (61%);
- Podoviridae - მოკლე, არაკუმშვადი კუდით (14%).

კუდიანი ფაგების აღნიშნული სამი ოჯახის ფიზიკო-ქიმიური მხასიათებლების მიხედვით დიფერენცირება მათი ამ კუთხით მსგავსების გამო ვერ ხერხდება (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

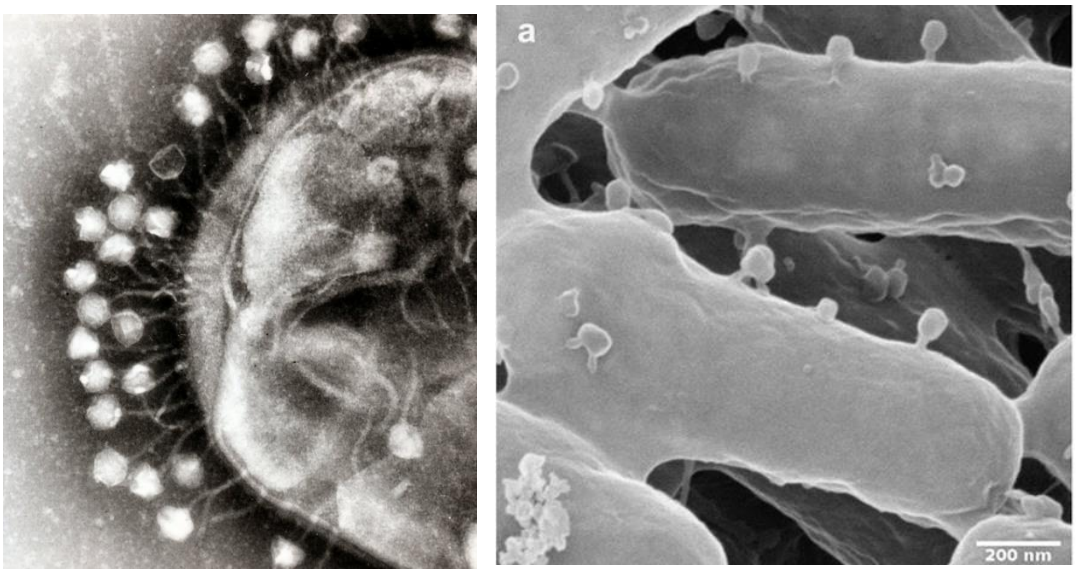
უკუდო ფაგები მხოლოდ 190 ცნობილ ვირუსს მოიცავს, რომლებიც შესწავლილი ბაქტერიული ვირუსების 4%-ს წარმოადგენს. ისინი 10 პატარა ოჯახადაა კლასიფიცირებული, რომლებიც ზოგჯერ მხოლოდ ერთ გვარს ან სახეობას მოიცავს. ეს ოჯახების ერთმანეთისგან ფუნდამენტური მახასიათებლებით განსხვავდებიან და როგორც ჩანს, მრავალ დამოუკიდებელ ფილოგენეტიკურ ჯგუფს ქმნიან (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

4.3. ბაქტერიოფაგის ლითიური ციკლი

ბაქტერიოფაგის ლითიური ციკლი რამდენიმე ეტაპს მოიცავს, რომელთაგან პირველი ბაქტერიაზე ფაგის ადსორბციაა, ამისათვის კი ვირუსსა და უჯრედის ზედაპირზე არსებულ სპეციფიკურ რეცეპტორებს შორის კავშირია საჭირო. ფაგის ლიზისური სპექტრის დეტერმინანტს დასაკავშირებელი სტრუქტურის არსებობა ან არ არსებობა წარმოადგენს. კუდიანი ფაგებით ინფექცია იწყება როდესაც ადსორბციის სპეციალიზირებული სტრუქტურები, ფიბრილები ან წვერები, სამიზნე ბაქტერიის ზედაპირზე არსებულ სპეციფიკურ მოლეკულებს ან კაფსულებს დაუკავშირდება. გრამ უარყოფით ბაქტერიებში ზოგიერთი ცილა, ოლიგოსაქარიდი და ლიპოპოლისაქარიდი ფაგების გარკვეული ნაწილისთვის მოქმედებს როგორც რეცეპტორი. გრამ დადებით ბაქტერიებზე დაკავშირების პოტენციური საიტების განსხვავებული ნაკრებია მოცემული, ფაგები ამოიცნობენ ერთ ან რამდენიმე მოლეკულას, მაგალითად, თეიხოის მჟავას, რომელიც პეპტიდოგლიკანის შრეშია განლაგებული. T4-ის მსგავსმა ფაგებმა უნდა დააკავშირონ თავიანთი ექვსი ფიბრილიდან მინიმუმ სამი მაინც პირველადი რეცეპტორის მოლეკულებთან, რათა მოხდეს ბაზალური ფირფიტის კომპონენტების გადაწყობა, რომლებიც შემდეგ შეუქცევლად დაუკავშირდებიან მეორეულ რეცეპტორს (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

გარდა რეცეპტორებისა ფაგის ადსორბცია უჯრედზე PH-ზე, ტემპერატურასა და სხვა ფაქტორებზეცაა დამოკიდებული. ერთ ბაქტერიულ უჯრედზე შესაძლოა ადსორბირდეს 200-დან 300-მდე ბაქტერიოფაგი (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

ადსორბციის სემდეგ ხდება ბაზალური მემბრანიდან ფერმენტ ლიზოციმის გამოთავისუფლება, რომელიც უჯრედის კედლის იმ უბნის დაშლას იწვევს სადაც ფაგია მიერთებული. ამავდროულად, კუდის შალითიდან კალციუმის იონების გამოთავისუფლება ხდება რაც ფერმენტს ატფ-აზას ააქტიურებს, რომლის მოქმედებით მიღებული ენერგიითაც შალითა იკუმშება და კუდის ღერძი უჯრედის კედელში შეჰყავს, რომლის გავლითაც ფაგური დნმ გადადის ბაქტერიაში (Kutter & Sulakvelidze, 2004).



სურათი 18. **ბაქტერიოფაგების ადსორბცია ბაქტერიის ზედაპირზე** - ტრანსმისიული ელექტრონული მიკროსკოპით გადაღებული ფოტო (მარცხნივ); ატომურ-ძალოვანი მიკორსკოპით გადაღებული ფოტო (მარჯვნივ).

ბაქტერიოფაგებს საკუთარი წრიული ფორმის გენომით, ბაქტერიული ნუკლეაზების ინჰიბირებით ან დნმ მოლეკულაში მოდიფიცირებული ნუკლეოტიდების ჩართვით შეუძლია ეგზონუკლეაზებისა და რესტრიქციული ფერმენტების მიმართ მგრძნობელობის დაძლევა. ფაგური პრომოტორების ამოცნობა ბაქტერიული რნმ-პოლიმერაზას მიერ იწვევს ადრეული ვირუსული გენების ტრანსკრიფციას, რომელთა პროდუქტებსაც შეუძლიათ ბაქტერიოფაგის გენომის დაცვა, მასპინძლის გადაწყობა ფაგის მოთხოვნილებებზე, ბაქტერიის პროტეაზების ინაქტივირება და რესტრიქციული ფერმენტების ბლოკირება, ასევე უჯრედის ზოგიერთი მაკრომოლეკულის სინთეზის შეწყვეტა და ცილების დაშლა (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

შესვლიდან 2-30 წთ-ის განმავლობაში ფაგი არანაირად არ ვლინდება ბაქტერიულ უჯრედში - დროის ამ მონაკვეთს ეკლიფსური ანუ ლატენტური პერიოდი ეწოდება, ამის შემდეგ ფაგის დნმ-ის რეპლიკაცია და მისი ცილების სინთეზი იწყება (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

მორფოგენეზი ფაგური გენომის შეფუთვასა და ახალი ფაგების აწყობას მოიცავს. ბაქტერიოფაგის თავი, კუდი, დნმ და სხვა ნაწილები სინთეზირდება ბაქტერიული უჯრედის სხვადასხვა ბნებში, ამიტომ ფაგის შვილეული თაობების აწყობას გარკვეული დრო სჭირდება. საბოლოო მოვლენას მასპინძლის უჯრედის ლიზისი წამოადგენს, რომელიც დროში მკაცრად კონტროლირდება. კუდიანი ფაგები ლიზისისთვის ორ კომპონენტს იყენებენ: ლიზინს, ფერმენტს რმელსაც შეუძლია პეპტიდოგლიკანის მატრიქსში ერთ-ერთი საკვანძო ბმა გაწყვიტოს და ჰილინს, ცილას რომელიც შესაბამის დროს შიდა მემბრანაში ფორებს წარმოქმნის, რათა ლიზინმა მიაღწიოს პეპტიდოგლიკანის შრეს (Kutter & Sulakvelidze, 2004).

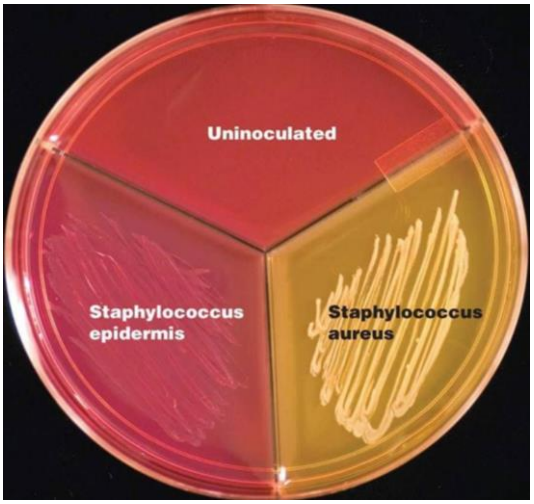
კვლევის მეთოდოლოგია

თავი 5. ბაქტერიული შტამების შესწავლისთვის გამოყენებული მეთოდები

5.1. S. aureus შტამების იდენტიფიკაციის კულტურალური მეთოდი

სავარაუდო S. *aureus* იზოლატების გამოსავლენად მიმდინარეობდა მოწოდებული კლინიკური შტამების იდენტიფიკაცია, რისთვისაც ვიყენებდით Manitol Salt Agar-ის (MSA) სელექციურ საკვებს არეს.

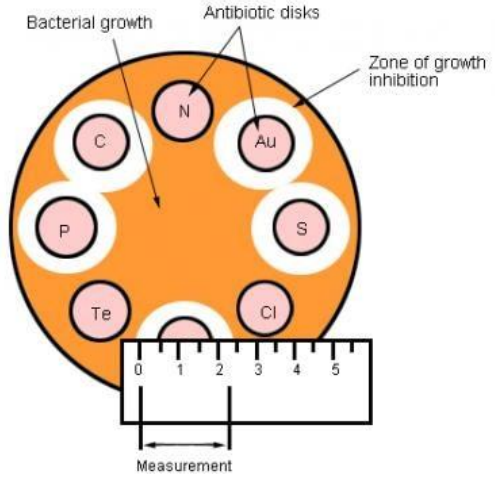
MSA პეპტონებსა და საქონლის ხორცის ექსტრაქტს შეიცავს, რომლებიც აზოტის, ვიტამინების, მინერალებისა და ზრდისთვის აუცილებელი ამიომჟავების წყაროს წარმოადგენენ. NaCl-ის 7.5% შემცველობა სტაფილოკოკების გარდა სხვა ბაქტერიული ორგანიზმების ნაწილობრივ ან სრულ ინჰიირებას იწვევს. გარდა ამისა, ნტრიუმის ქლორიდი არის აქტიური ტრანსპორტისა და ოსმოსური ბალანსისთვის საჭირო ელექტროლიტების წყარო. მანიტოლი ფერმენტირებადი ნახშირწყალია, რომლის დუღილი მჟავას წარმოქმნას იწვევს, რაც ფენოლის წითელი ინდიკატორით ვლინდება და სტაფილოკოკური სახეობების დიფერენცირებას უწყობს ხელს. კოაგულაზა დადებითი (ე.ი. ოქროსფერი სტაფილოკოკები) ყვითელ კოლონიებს წარმოქმნიან და მათი მიმდებარე გარმოც ყვითელია, ხოლო კოაგულაზა უარყოფითი სტაფილოკოკები წითელ კოლონიებს წარმოქმნიან და ფენოლის წეითელი ინდიკატორის ფერი არ იცვლება (Aryal, 2022).



სურათი 19. სტაფილოკოკების ზრდა მანიტოლის აგარზე.

5.2. ანტიბიოტიკო-მგრძნობელობის განსაზღვრა

ანტიბიოტიკების მიმართ ბაქტერიული იზოლატების მგრძნობელობის განსაზღვრა კირბი-ბაუერის იგივე დისკო-დიფუზური მეთოდის გამოყენებით მოხდა, რომელიც სტანდარტულ პირობებში ბაქტერიული ზრდის ინჰიბიციის გაზომვა/გამოთვლას ეყრდნობა. მეთოდში მიულერ-ჰინტონის აგარი (Mueller-Hinton agar) გამოიყენება. აგარში ასეპტიკურად ხდება სატესტო ორგანიზმის, ანუ ბაქტერიის, ინოკულაცია, რის შემდეგაც ხდება ამათუ იმ კონკრეტული ანტიბიოტიკის განსაზღვრული კონცენტრაციით გაჟღენთილი ე.წ. ქაღალდის დისკების განთავსება. ბაქტერიულ ნაზარდთან ერთად აგარზე ხილული ხდება ბატერიული ზრდის ინჰბიციაც. აღნიშნული "ინჰიბიციის ზონების" გაზომვა საშუალებას გვაძლევს განვსაზღვროთ მოცემული ანტიბიოტიკის აქტივობა სატესტო ბაქტერიის მიმართ. მიღებული შედეგების წაკითხვა ხდება კლინიკური და ლაბორატოიული სტანდარტების ისნტიტუტის (CLSI) კრიტერიუმებზე დაყრდნობით. მოცემულ კრიტერიუმებზე დაყრდნობით ორგანიზმი შესაძლოა კლასიფიცირდეს, როგორც რეზისტეტული (R), შუალედური (I) და მგრძნობიარე (S) (მაკალათია, 2020).



Antibiotics	potency (µg)	Inhibition zone diameter in mm Resistant	Intermediate	Susceptible
Ampicillin	10			
Gram negative		≤ 13	14 – 16	≥ 17
Staphylococci		≤ 28	---	≥ 29
Haemophilus		≤ 21	22 – 24	≥ 25
Chloramphenicol	30	≤ 12	13 – 17	≥ 18
Haemophilus		≤ 25	26 – 28	≥ 29
Clindamycin	02	≤ 14	15 – 20	≥ 21
Gentamicin	10	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Polymyxin B	300	≤ 8	9 – 11	≥ 12
Tetracyclin	30	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Haemophilus		≤ 25	26 – 28	≥ 29
Vancomycin	30	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Sulfonamides and trimethoprim	24	≤ 10	11 – 15	≥ 16

სურათი 20. დისკების მეთოდის შედეგების აღრიცხვა და მათი ინტერპრეტირება.

ანტიბიოტიკო მგძნობელობა შესწავლილ იქნა სულ 10 ანტიბიოტიკის მიმართ, ესენია: Ampicillin (A, 10 µg), Clindamycin (DA, 2 µg), Cephalexin (CL, 30 µg), Erythromycin (E, 15 µg), Gentamicin (GN), Lincomycin (L, 15 µg), Linezolid (LNZ, 10 µg), Oxacillin (OX, 1µg), Tetracycline (Tc, 30 µg), Tobramycin (TOB, 10 µg).

შედეგები ინტერპრეტირდა კლინიკური და ლაბორატორიული სტანდარტების ინსტიტუტის (CLSI), კრიტერიუმებზე დაყრდნობით (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018).

5.3. გრამის წესით შეღებვა

გრამის წესით შეღებვა ბაქტერიების უჯრედის კედლის სტრუქტურის მიხედვით დიფერენცირების გავრცელებული მეთოდია. აღნიშნული მეთოდი ბაქტერიებს გრამ-დადებით და გრამ-უარყოფით ჯგუფებად ყოფს იმის მიხედვით იისფრად შეიღება ბაქტერია თუ წითლად. გრამ-დადებითი ბაქტერიები ინარჩუნებენ კრიტალურ იისფერს დეკოლორიზაციის დროს მათი სქელი პეპტიდოგლიკანური შრის გამო. საპირისპიროდ, გრამ უარყოფითი ბაქტერიების თხელი პეპტიდოგლიკანური შრე ვერ ინარჩუნებს კრისტალურ იისფერს საღებავის ალკოჰოლით მოცილებისას, რის გამოც, მეორადი შეღებვის დროს იღებებიან წითლად საფრანინის მეშვეობით.

გრამის წესით შეღებვის პროცესი შემდეგ ეტაპებს მოიცავს:

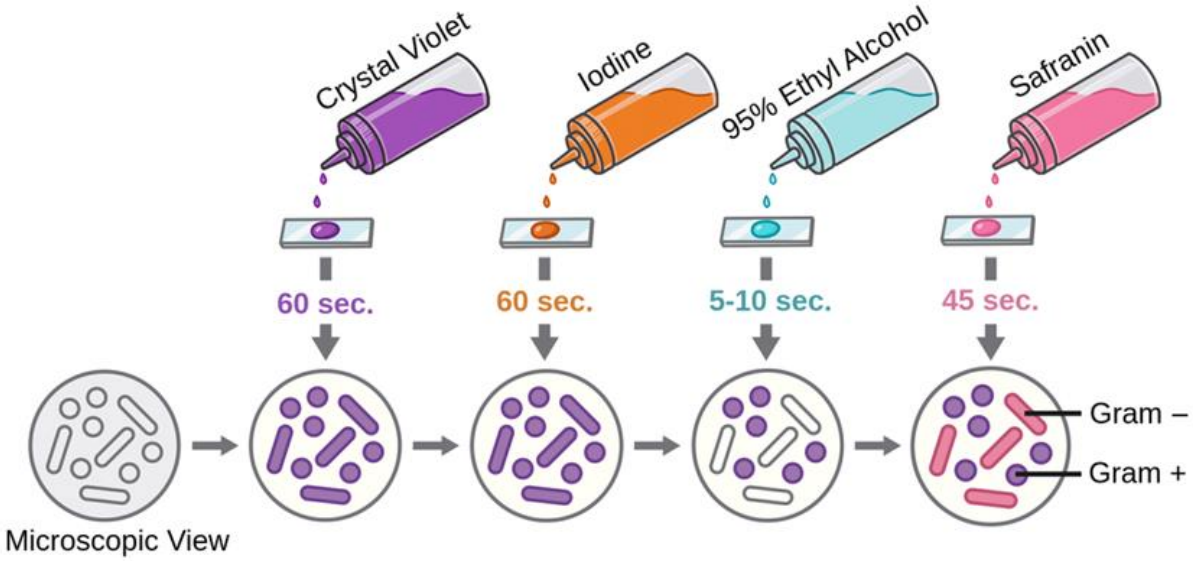
1. სასაგე მინაზე დავაწვეთოთ გამოხდილი წყალი და მარყუჟით გადავიტანოთ ბაქტერიის კულტურა. მარყჟის მსუბუქი მოძრაობით გავანაწილოთ ბაქტერიული კოლონია წყლის წვეთში, რის შემდეგაც სასაგნე მინის სპირქურასთან ფრთხილი მოძრაობით ვაშრობთ ნაცხს;

2. სასაგნე მინაზე ვაწყვეთებთ კრისტალურ იისფერს და ვაყოვნებთ 1 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც წყლის მცირე ნაკადით დარჩენილ საღებავს ჩამოვრეცხავთ;

3. შემდეგ ეტაპზე სასაგნე მინაზე ვაწვეთებთ იოდს (რომელიც ბაქტერიის უჯრედის კედელზე კრისტალური იისფრის ფიქსაციას უწყობს ხელს) და ვაყოვნებთ 1 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც წყლის საშუალებით ჩამოვრეცხავთ დარჩენი იოდს;

4. ნიმუშს ვაწყევთებთ 70 % ალკოჰოლს და ვაყოვნებთ 5-15 წამის განმავლობაში, შემდეგ ჩამოვრეცხავთ წყლით. ალკოჰოლი ახდენს გრამ-უარყოფითი ბაქტერიის უჯრედის კედლიდან კრისტალური იისფრის მოშორებას, თუმცა სასაგნე მინაზე მისი დიდხანს დაყოვნების შემთხვევაში, შესაძლოა საღებავი მოშორდეს გრამ დადებით ბაქტერიებსაც;

5. გრამის წესით შეღებვის ბოლო ეტაპზე ხდება სასაგნე მინაზე „მეორადი საღებავის“ საფრანინის დამატება, რომელიც ყოვნება 1 წუთის განმავლობაში და შემდეგ ჩამოირეცხება (Bruckner, 2021).



სურათი 21. გრამის წესით შეღებვის პროცესი

თუ ბაქტერია გრამ-უარყოფითია მას ალკოჰოლი ჩამოაშორებს კრისტალურ იისფერს და შეიღებება საფრანინათი, რის გამოც მიკროსკოპის ქვეშ გამოჩნდება წითლად (Bruckner, 2021).

თავი 6. ბაქტერიოფაგების შესწავლისთვის გამოყენებული მეთოდები

6.1. ბაქტერიოფაგების გამოყოფა

ახალი ბაქტერიოფაგების გამოსაყოფად ე.წ. გამდიდრებული საკვები არის მეთოდი გამოიყენება. ამ მეთოდის პრნციპი ფაგის სპეციფიკურობაზეა დამყარებული. ცნობილია, რომ ფაგის მიერ ბაქტერიის ინფიცირებისთვის პირელ ეტაპზე ფაგისთვის პატრონი უჯრედის ზედაპირზე დამაგრებაა აუცილებელი, რაც ვერ განხორცილდება, თუ ბაქტერიოფაგი სავარაუდო მასპინძელი ბაქტერიის ზედაპირზე შესაბამის რეცეპტორს ვერ მიემაგრება. გამდიდრების მეთოდი სასურველი მოქმედების სპექტრის მქონდე ფაგებისთვის პოტენციური მასპინძელი შტამების ნარევის „შეთავაზებას“ გულისხმობს, რომლებიც ასეთი რეცეპტორებით იქნებიან აღჭურვილი. ჩვენს შემთხვევაში გამოსაყოფი ფაგების მასპინძელ ბაქტერიებად Staphylococcus-ის შტამები გამოიყენებოდა. მეთოდის მიხედვით 10-ჯერადად კონცენტრირებული BH ვულიონის 10 მლ თავსდებოდა 125 მლ მოცულობის ერლენმეიერის კოლბაში, ვამატებდით 90 მლ წყლის ნიმუშს (ჩამდინარე, ზღვის ან მდინარის წყლის), საბოლოოდ ნარევში დებოდა სასურველი შტამის ან შტამების ნარევის 1 მლ-ის ინოკულაცია. ინკუბაციისთვის კოლბა თავსდებოდა 370C-ზე 18 სთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც ხდებოდა ნარევის ცენტრიფუგირება 6000g -ზე 30 წუთის განმავლობაში. სუპერნატანტი იფილტრებოდა 45 µm ან 22 µm ზომის ფილტრებში, რის შემდეგაც “Spot-Test” მეთოდის გამოყენებით ხდებოდა ფილტრატის შემოწმება ფაგის არსებობაზე (მაკალათია, 2020).

6.2. ბაქტერიოფაგების აქტივობისა და მოქმედების სპექრის შესწავლა ლაქების მეთოდით (SPOT-TEST)

ბაქტერიების მიმართ ფაგების აქტივობის განსაზღვრა მოხდა ე.წ. "ლაქების მეთოდის" (SPOT-TEST) გამოყენებით. თავდაპირველად ხდება ბაქტერიების 18 სთ-ანი ბულიონური კულტურის 107 კწე/მლ ტიტრის მიღწევამდე განზავება, ხოლო საკვლევი ფაგის ტიტრი 106 ნკწე/მლ უნდა იყოს. ინფექციის მრავლობითობა (Multiflicity of infection – MOI) ანუ ბაქტერიოფაგისა (ინფექციური ერთეული) და მასპინძელი უჯრედის რაოდენობრივი შეფარდება 0.1-ის ტოლია, რის გამოც თითოეულ ფაგს მასპინძელ უჯრედზე მიმაგრებისა და შემდგომ განვითარების საშუალება ეძლევა. თითოეული ბაქტერიული კულტურის 300 µl გადაგვქონდას სინჯარაში, რომელშიც მოცემული იყო 5 მლ 0.6% -იან ნახევრად თხიერი აგარი, მორევის შემდეგ გადაგვქონდა პეტრის ფინჯანზე, რომელზეც 2%-იანი აგარი იყო მოცემული. ამის შემდეგ პიპეტით ხდებოდა საკვლევი ფაგის ლიზატის 5-10 µl-ის გადატანა პეტრის ფინჯანზე, რომელიც გასაშრობად ჩერდება ოთახის ტემპერატურაზე. გაშრობის შემდეგ ხდება ინკუბირება 37°C-ზე 18 საათის განმავლობაში. იმისთვის რომ ცრუ დადებითი შედეგი გამოირიცხოს, გარდა საწყისი ლიზატისა გამოიყენება მისი მინიმუმ სამი ათჯერადი სერიული განზავებებიც (მაკალათია, 2020); (Kurowska, 2020).

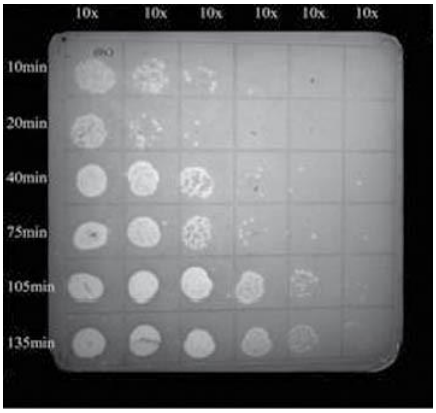
აბრევიატურა	მნიშვნელობა	ინდექსი
CL	სრული ლიზისი, ბაქტერიაზე ფაგის მოქმედების ადგილი გამჭირვალეა	5
SCL	არასრული ლიზისი, ბუნდოვნად შეინიშნება ბაქტერიული ნაზარდი	4
OL	აღინიშნება ლიზისური უბნები, თუმცა ისინი ბაქტერიების მეორადი ზრდის უბნებითაა გადაფარული და ისინი უფრო ბუნდოვანია ვიდრე SCL-ს შემთხვევში	3
OLR	ლიზისურ უბანზე ცალკეული ბაქტერიული კოლონიები წვრილი ბუნდოვანი წერტილების სახითაა წარმოდგენილი	2
IPC	ბაქტერიულ ნაზარდზე ცალკეული ლიზისური უბნების წვრილი წერტილების სახითაა წარმოდგენილი	1
R	შტამი რეზისტენტული ფაგისადმი	0

ცხრილი 1. ფაგის მიერ წარმოქმნილი ლიზისური ზონების დახასიათებისა და შეფასების სქემა.

6.3. ბაქტერიოფაგების აქტივობისა და მოქმედების სპექტრის შესწავლა შტრიხების მეთოდით

პეტრის ფინჯანი წინასწარ იყოფა კვადრატებად. 18 საათიანი სატესტო კულტურის წვეთები მარყუჟით გადაიტანება 2%-ანი აგარის პეტრის ფინჯანზე დახაზული ზოლების გასწვრივ შტრიხების/ხაზების სახით. პეტრის ფინჯნები გავაშრეთ ოთახის ტემპერატურაზე დაახლოებით 10 წთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგაც თითოეულ შტრიხზე დავიტანეთ საკვლევი ფაგის თითო

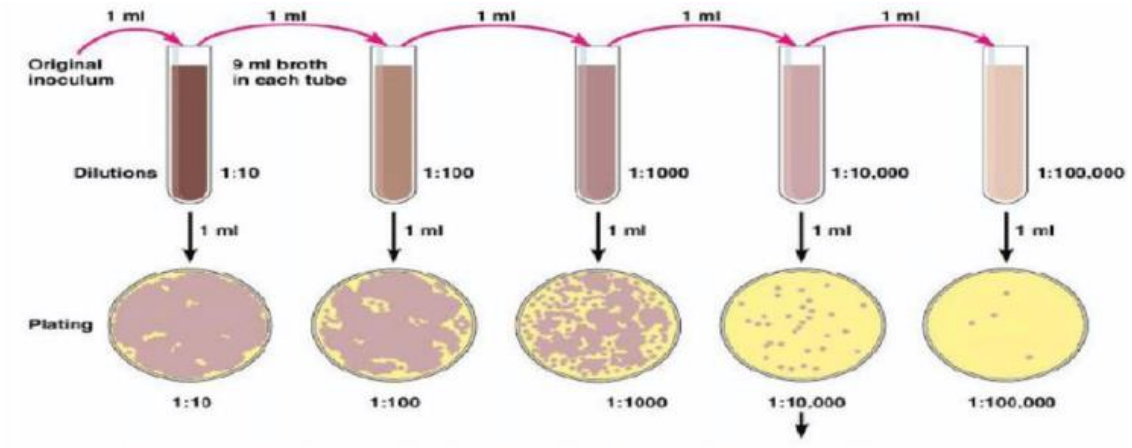
წვეთს. 37^{0}C-ზე 18 საათიან ინკუბირების შემდეგ ხდება ლიზისური უბნების არსებობასა და არარსებობაზე დაკვირვება და მათი ხარისხის მიხედვით ხდება შტამის ფაგო-მგრძნობელობის შეფასება, რისთვისაც გამოიყენება იგივე კრიტერიუმები, რომლებიც პარაგრაფ 6.2.-შია აღწერილი (მაკალათია, 2020).



სურათი 22. შტამების ფაგომგრძნობელობის განსაზღვრა ფაგების მიმართ

6.4. ბაქტერიოფაგების ტიტრის განსაზღვრა ორშრიანი აგარის ანუ გრაციას მეთოდით

1 მლ საკვლევ ლიზატში ფაგის ნაწილაკების რაოდენობის ანუ ტიტრის განსაზღვრა გრაციას, იგივე ორშრიანი აგარის, მეთოდის გამოყენებით ხდება. ამ მეთოდის გამოყენებით ისაზღვრება ნეგატიური (ფაგური) კოლონიის წარმომქმნელი ერთეულების რაოდენობა 1 მლ-ში. რისთვისაც საკვლევი ფაგის ლიზატი 10 ჯერადად ზავდება (10^{-1}დან 10^{-10} მდე), თითოეული განზავებიდან ფაგის ერთი მლ სტერილურ სინჯარაში გადაგვაქვს, სადაც მას 10^8 კწე/მლ ტიტრის სატესტო ბაქტერიული კულტურის 0.1 მლ და 45^{0}C-მდე გამთბარი 5მლ 0.6%-იანი ნახევრად თხევადი აგარი ემატება. სინჯარის სწრაფი შენჯღრევის შემდეგ, ნაზავი 2% აგარის პეტრის ფინჯანზე დაიტანება. ფინჯნების გაშრობის შემდეგ ისინი თერმოსტატში 37^{0}C ტემპერატურაზე თავსება. შედეგების ანალიზი ხდება 18-24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ. ფაგის ტიტრი აქტიური ფაგური ნაწილაკების ანუ ნეგატიური კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულების რაოდენობით განისაზღვრება მოცემულ განზავებაში.



სურათი 23. სერიული განზავებისა და ორშრიანი აგარის მეთოდის განხორციელების სქემა.

1 მლ საკვლევ ლიზატში მისი გამოთვლა ხდება შემდეგი ფორმულით:

ნეგატიური კოლონიების რიცხვი X 10 X განზავების მაჩვენებელი=ნკწე/მლ (ნეგატიური კოლონიის წარმომქმნელი ერთეული/მლ) (მაკალათია, 2020).

6.5. დათესვის ეფექტურობა

იმისათვის რომ ფაგისთვის საუკეთესო პატრონი ბაქტერიის შერჩევა მოხდეს, საჭიროა რამდენიმე შტამის მიმართ მისის გამრავლების უნარის განსაზღვრა. პატრონი შტამის შერჩევის ამ მეთოდს დათესვის ეფექტურობა ეწოდება. (მაკალათია).

ბევრი ფაგისთვის, მაგალითად T4 ფაგებისთვის დამახასიათებელია 100 % დათესვის ეფექტურობა ოპტიმალურ პირობებში, რაც გულისხმობს, რომ ყოველ ფაგურ ნაწილაკს, რომელიც უჯრედზე ჯდება, უჯრედში შეღწევისა და შტამომავლობის მოცემის უნარი შესწევს. (კროპინსი)

თავდაპირველად ხდება საკვლევი ფაგის მიმართ მგრძნობიარე სხვადასხვა ბაქტერიული კულტურის კულტივაცია. ხდება საკვლევი ფაგის სერიული განზავებები. გარკვეული განზავებებიდან ვიღებთ 100 µl ოდენობით ფაგს, ათავსებენ სტერილურ სინჯარაში და უმატებენ 100 µl ოდენობით ბაქტერიის ბულიონურ კულტურასა და ნახევრად თხიერი აგარის 3 მლ-ს. ნარევი შენჯღრევის შემდეგ დაიტანება 1.5% აგარიან პეტრის ფინჯნებზე, რომლებიც 37^0C-ზე 18-24 საათის განმავლობაში ინკუბირდება. ინკუბაციის შემდეგ აღირიცხება ფაგური კოლონიები. დათესვის ეფექტურობა საკვლევი ბაქტერიის მიმართ მიღებული ფაგის ტიტრისა და პატრონი უჯრედის მიმართ არსებული ფაგის ტიტრის ურთიერთშედარებით განისაზღვრება.

დათესვის ეფექტურობა გამოითვლება ფორმულით:

$$E=T/T_0$$

E არის დათესვის ეფექტურობა, T - საკვლევი ბაქტერიული შტამის მიმართ ფაგის ტიტრი, T_0 - ფაგის ტიტრი პატრონი ბაქტერიული უჯრედული შტამის მიმართ.

თუ E=1, მაშინ საკვლევი ბაქტერიული შტამი ფაგის ისეთივე გამოსავალს იძლევა, როგორსაც მისი საწყისი პატრონი შტამი. თუ E>1 მაშინ ტესტ შტამი უკეთეს პატრონად ჩაითვლება ვიდრე საწყისი პატრონი კულტურა (მაკალათია, 2020).

6.6. ბაქტერიოფაგის ერთჯერადი გამრავლების ციკლი

ერთი პატრონი უჯრედის შიგნით ბაქტერიოფაგების გამრავლების მონაცემები მისი ლიტიური ბუნების დადგენის მნიშვნელოვან პარამენტრს წარმოადგენს (მაკალათია, 2020).

<u>6.6.1 ბაქტერიოფაგების პატრონ უჯრედზე ადსორბცია</u>

ფაგის სასიცოცხლო ციკლის პირველი ეტაპი მისი ბაქტერიის უჯრედის კედელზე ადსორბციაა, აქედან გამომდინარე ბაქტერიოფაგების ეკოლოგიის კვლევისთვის ფუნდამენტურია მისი პატრონ უჯრედზე მიმაგრების სიჩქარის განსაზღვრა, რათა მოხდეს მისი, როგორც მტაცებლის, ზემოქმედების შეფასება მასპინძლის პოპულაციაზე.

ერთ ბაქტერიულ უჯრედზე ერთი ფაგის ადსორბცია გამოითვლება შემდეგი ფორმულით

$$k = 2.3/Bt \times \log P0/P$$

სადაც: k ადსორბციის სიჩქარის კონსტანტაა (მლ/წთ), B ბაქტერიების კონცენტრაცია, t დრო, რომლის განმავლობაშიც ფაგის საწყისი ტიტრი P0 ეცემა ფაგის საბოლოო P ტიტრამდე (მაკალათია, 2020).

რაც უფრო სწრაფია ფაგის ადსორბცია ბაქტერიულ კულტურაზე მით, უფრო სავარაუდოა, რომ იგი განეკუთვნება ლითიური ფაგების კლასს. 12 სინჯარაში გადაგვქვს 0,95 მლ ბულიონი, საიდანაც 10 სინჯარას ვნომრავთ A1-A10 თანმიმდევრობით, ხოლო ორ სინჯარას ვნიშნავთ როგორც C1 და C2 (კონტროლები). პასტერის პიპეტის გამოყენებით, ვამატებთ 3 წვეთი ქლოროფორმი თითოეულ სინჯარაში თან ნუმეროლოგიურირი თანმიმდევრობით ჩავალაგეთ ყინულში, სადაც სინჯარები მოთავსებული უნდა იყოს სულ მცირე 10 წუთის გამავლობაში. ბულიონში კუტივირებული წინა ღამის ბაქტერიული კულტურა განვაზავეთ,ისე რომ მივიღეთ 10 მლ. ვიღებთ ორ კოლბას და ავღნიშნავთ, როგორც A და C. A კოლბაში გადაგვაქვს 9 მლ ბაქტერიული კულტურის სუსპენზია, ხოლო C -ში გადაგვაქვს 9 მლ ბულიონი, C და A კოლბებს ვათავსებთ წყლის აბაზანის შეიკერში (სანჯღრეველაში) 5 წთ-ის განმავლობაში 60 ბრ/წთ სიჩქარეზე. განზავებული ბაქერიული კულტურის დარჩენილი ნაწილი გადაგვაქვს ყინულში. 0 წუთზე 1 მლ ფაგის სუსპენზია, რომლის ტიტრია 1-3*10^5, გადაგვაქვს კოლბა A-ში და ვურთავთ ტაიმერს, თითქმის მაშინვე 1 მლ ფაგს ვამატებთ C კოლბაშიც. 1 წუთზე გადაგვაქვს 0,05 მლ სუსპენზია A კოლბიდან გაცივებულ A1 სინჯარაში, რომელსაც ვავორტექსებთ 10 წამის განმავლობაში და ვაბრუნებთ ყინულში. შემდეგი 10 წუთის გამვალობაში, ყოველი წუთის შემდეგ A კოლბიდან ვიღებთ 0,05 მლ სუსპენზიას და გადაგვაქვს შესაბამისი აღნიშვნის მქონე გაციებულ სინჯარებში. C კოლბიდან 0,05 მლ სუსპენზია გადაგვაქვს C1 და C2 სინჯარებში, რის შემდეგაც სინჯარებს ვაბრუნებთ ყინულში. თითოეული ქლოროფორმილებული სინჯარიდან ვიღებთ 0,1 მლ ნარევს და გადაგვქვს სინჯარებში, სადაც მოცემულია ნახევრად თხიერი საკვები არე, ვუმატებთ 0,1 ml ბაქტერიულ კულტურასა და დავიტანთ პეტრის ფინჯანზე ორშრიანი აგარის მეთოდით. ბაქტერიული კულტურის სუსპენზიას ვტიტრავთ 10^{-6} განზავებამდე, 10^{-4} -სა და 10^{-6} განზავებების 0,1 მლ-ს ვთესავთ პეტრის ფინჯანზე. ჩატარებული პროცედურების შემდეგ პეტრის ყველა ფინჯანი ინახება თერმოსტატში ინკუბაციის მიზნით შესაბამის ტემპერატურაზე. შესაბამისი ინკუბაციური პერიოდის შემდეგ ყველა პეტრის ფინჯანზე ვითვლით ბაქტერიულ და ფაგურ კოლონიებს და ვახდენთ მონაცემთა ანალიზს (მაკალათია, 2020).

<u>6.6.2 ბაქტერიოფაგის ლატენტური პერიოდისა და გამოსავლიანობის განსაზღვრა</u>

ბაქტერიოფაის უჯრედშიდა ლატენტური პერიოდისა და თითოეული ინფიცირებული უჯრედიდან საშუალო გამოსავლიანობის განსაზღვრისთვის აუცილებელია წინასწარ ვიცოდეთ t დროის განმავლობაში ბაქტერიოფაგების რა დაოდენობი ადსორბცია ხდება ბაქტერიულ უჯრედზე. აღნიშნული ინფორმაცია მოცემულია 6.6.1 პარაგრაფში.

თხევად არეში 10 ჯერადად განავებულ 18 საათიან კულტურა თავსდება 37^0C ტემპერატურაზე 5 წთ-ის განმავლობაში. ცარიელ სინჯარაში გადავიტანეთ 9.9 მლ ბაქტერია, რომელსაც დაეტამატა 10^7 ტიტრის მქონე ფაგის 0.1 მლ და თავსდება 37^0C-ზე 6 წთ-ის განმავლობაში. განზავებული ბაქტერიული კულტურის 0.1 მლ გადაიტანება 9.9 მლ ბულიონში ან ფიზიოლოგიურ ხსნარში და თავსდება ყინულში. 12 წუთის შემდეგ ფაგისა და ბაქტერიის ნაზავიდან 0.1 მლ გადაგვაქვს 9.9

თხევად ბულიონში და სინჯარას A ასოთი აღნიშნავთ, მორევის შემდეგ 1 მლ ნაზავი A სინჯარიდან გადაგვაქვს სუფთა სინჯარაში სადაც წინასწარ მოცემულია 50 µl ქლოროფორმი. თითქმის მაშინვე A სინჯარიდან 1 მლ ნაზავი გადაგვქვს 9 მლ ბულიონში, სინჯარას ვურევთ და ავრნიშნავთ B ასოთი. B და A სინჯარებიდან ვიღებთ 0.1 მლ ნაზავს და გადაგვაქვს სინჯარებში რომლებშიც წინასწარ მოცემულია ბაქტერიის 18 საათიანი ბულიონური კულტურის 0.1 მლ, ფაგისა და ბაქტერიის აღნიშნულ ნარევს ვუმატებთ 0.6% ე.წ. ნახევრად თხიერ აგარს და დავიტანთ ორშრიანი აგარის მეთოდით. B სინჯარიდან 1 მლ ნაზავი გადაგვაქვს 9 მლ ბულიონში (C სინჯარაში) მორევის შემდეგ კი კვლავ ვაბრუნებთ აბაზანაში (მაკალათია, 2020).

შემდეგი 60 წუთის განმავლობაში ყოველ ხუთ წუთში ვიღებთ A, B და C სინჯარებიდან 0.1 მლ ნაზავს გადაგვაქვს წინასწარ მომზადებულ სინჯარებში, რომლებშიც ბაქტერიის 18 საათიანი ბულიონური კულტურის 0.1 მლ არის მოცემული და დავიტანთ პეტრის ფინჯნებზე გრაციას მეთოდით (მაკალათია, 2020).

კონტროლისთვის ქლოროფორმრებული სინჯარიდან ვიღებთ ნარევის 0.1 მლ-ს და გადაგვაქვსცარიელ სინჯარაში, სადაც ემატება ბაქტერიის 18 საათიანი ბულიონური კულტურის 0.1 მლ და დაიტანება პეტრის ფინჯანზე გრაციას მეთოდით. 9.9 მლ ფიზოლოგიურ ხსნარში განზავებული ბაქტერიის ბულიონური კულტურის 0.1 მლ ითესება პეტრის ფინჯანზე 1მლ სითხეში კოლონიის წარმომქმნელი ერთეულების განსაზღვრისვის. პეტრის ფინჯნების გშრობის შემდეგ ხდება მათი ინკუბირება 18-24 საათის განმავლობაში 37^{0}C-ზე, რის შემდეგაც აღირიცხება მონაცემები (მაკალათია, 2020).

კვლევის შედეგები

თავი 7. ბაქტერიული შტამების დახასიათება

7.1. კლინიკური შტამების იდენტიფიცირება

სულ კვლევა მიმდინარეობდა გ. ელიავას ინსტიტუტის კვლევისა და განვითარებოის განყოფილების ბაზაზე არსებულ 56 ბაქტერიულ შტამზე, რომელთაგან 16 სინჯი გადმოცემული იქნა ინსტიტუტისთვის 2021 წელს სადიაგნოსტიკო ცენტრის მიერ ხოლო 40 კლინიკური შტამი მოწოდებული იქნა საბერძნეთიდან, ათენის უნივერსიტეტის მიერ. კლინიკური ბაქტერიული შტამების იდენტიფიცირებისთვისა და მათი S. *aureus* სახეობისთვის მისაკუთვნებლად მოხდა შტამების სკრინინგი მანიტოლის აგარზე. სკრინინგის შედეგად აგარზე არ გაიზარდა 4 შტამი, რომელთაგან 2 შტამი მოწოდებული იყო საბერძნეთიდან. ხოლო სამმა შტამმა ვერ მოახდინა მანიტოლის ფერმენტირება და შესაბამისად არ წარმოქმნა ოქროსფერი კოლონიები და ზონები, აღნიშნული შტამებიდან 2 მოწოდებული იყო ათენის უნივერსიტეტიდან. სკრინინგის მონაცემების გაანალიზების შედეგად 7 ბაქტერიული შტამი (3 ქართული, 4 ბერძნული) კვლევის შემდეგი ეტაპებიდან ამოღებული იქნა.

მინიჭებული სახელი	გვარი	სახეობა	წყარო	ლოკაცია	ზრდა სელექტიურ საკვებ არეზე
S. a. 1. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ

მინიჭებული სახელი	გვარი	სახეობა	წყარო	ლოკაცია	ზრდა სელექტიურ საკვებ არეზე
S. a. 2. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 3. 21			კლინიკური	საქართველო	არა
S. a. 4. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 5. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 6. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 7. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 8. 21			კლინიკური	საქართველო	არა
S. a. 9. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 10. 21	Staphylococcus		კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 11. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 12. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 13. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 14. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 15. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. 16. 21	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საქართველო	დიახ
S. a. E	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 5	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 14	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 16	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 22	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 30	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 32	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 38	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 46	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 49	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 141	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 436	Staphylococcus		კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8388	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8396	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8406	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8417	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8430	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8431	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8434	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8476	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 8497	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 850	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1550	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1555	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1564	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ

მინიჭებული სახელი	გვარი	სახეობა	წყარო	ლოკაცია	ზრდა სელექტიურ საკვებ არეზე
S. a. 1573	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1572	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1584			კლინიკური	საბერძნეთი	არა
S. a. 1568	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1551	Staphylococcus		კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1586	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 643	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1605	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1607	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 883	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1725	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1609			კლინიკური	საბერძნეთი	არა
S. a. 1615	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1611	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ
S. a. 1633	Staphylococcus	S. *aureus*	კლინიკური	საბერძნეთი	დიახ

ცხრილი 2. კვლევის დროს გამოყენებული ბაქტერიული შტამები (ყვითლად მონიშნულია უჯრები იმ შტამების გასწვრივ, რომლთა ზრდაც არ მოხდა მანიტოლის აგარზე, ან არ დაფიქსირდა ოქროსფერი კოლონიები)

7.2. ანტიბიოტიკო მგრძნობელობის სპექტრის დადგენა

კვლევის ერთ-ერთ ძირითად მიზანს წარმოადგენდა S. *aureus* შტამების ანტიბიოტიკების მიმართ მგრძნობელობის განსაზღვრა, რისთვისაც გამოყენებულ იქნა Kirby-Bauer-ის გელში დიფუზიის მეთოდი. ანტიბიოტიკომგძნობელობა შესწავლილ იქნა სულ 10 ანტიბიოტიკის მიმართ, ესენია: Ampicillin (A), Clindamycin (DA), Cephalexin (CL), Erythromycin (E), Gentamicin (GN), Lincomycin (L), Linezolid (LNZ), Oxacillin (OX), Tetracycline (Tc), Tobramycin (TOB). ანტიბიოტიკების ეფექტურობა შესწავლილ იქნა 49 ბაქტერიული შტამის მიმართ, რომელთაგან 13 იზოლატი ქართული იყო, ხოლო 36 ბერძნული.

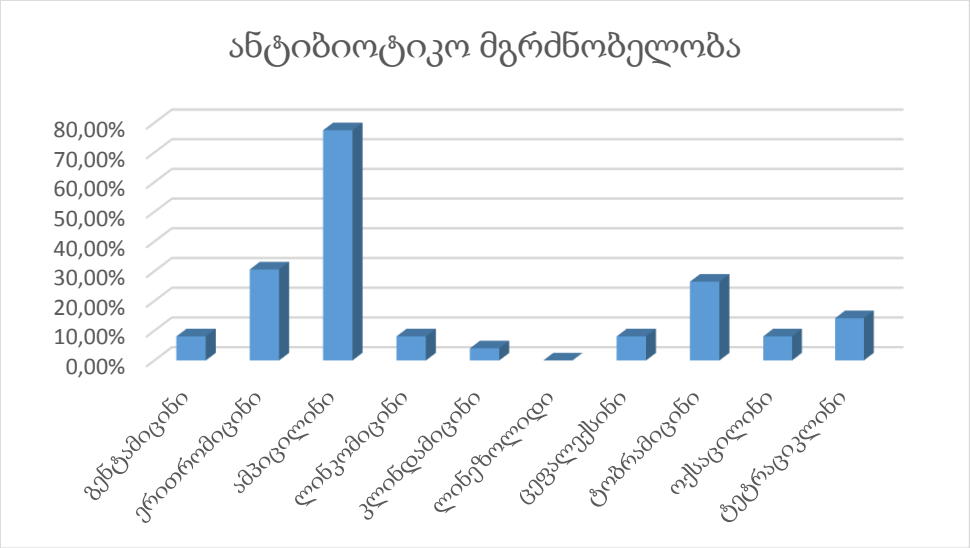
შტამები	**G**	**E**	**A**	**L**	**DA**	**LNZ**	**CL**	**TBR**	**OX**	**TET**
S. a. 1. 21	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S
S. a. 2. 21	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 4. 21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 5. 21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 6. 21	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 7. 21	R	I	R	R	I	S	S	R	S	S
S. a. 9. 21	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S
S. a. 11. 21	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
S. a. 12. 21	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 13. 21	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

შტამები	G	E	A	L	DA	LNZ	CL	TBR	OX	TET
S. a. 14. 21	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 15. 21	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R
S. a. 16. 21	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. E	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 5	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 14	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I
S. a. 16	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 22	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 30	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 32	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 38	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 46	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 49	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 141	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
S. a. 8388	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S. a. 8396	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S. a. 8406	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 8417	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 8430	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 8431	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S
S. a. 8434	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S. a. 8476	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 8497	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
S. a. 850	S	R	R	R	R	S	R	R	R	S
S. a. 1550	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 1555	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S
S. a. 1564	S	S	R	S	S	S	S		S	S
S. a. 1573	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R
S. a. 1572	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
S. a. 1568	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S. a. 1586	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 643	S	S	R	S	S	S	S	R	I	S
S. a. 1605	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 1607	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 883	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 1725	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
S. a. 1615	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R
S. a. 1611	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S. a. 1633	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R

ცხრილი 3. ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ტესტის შედეგები

შედეგები ინტერპრეტირდა კლინიკური და ლაბორატორიული სტანდარტების ინსტიტუტის (CLSI), კრიტერიუმებზე დაყრდნობით. ანტიბიოტიკოგრამის შედეგები გვიჩვენებს რომ 49 ბაქტერიული შტამიდან გენტამიცინის მიმართ რეზისტენტული იყო 4 (8.1%), ერითრომოცინის

მიმართ რეზისტენტული იყო 15 (30.6%), ამპიცილინის მიმართ 38 (77.5%), ლინკომიცინის 4 (8.1%), კლინდამიცინის მიმართ 2 (4.08%), ლინეზოლიდის მიმართ არცერთი შტამი არ იყო რეზოსტენტული (0%), ცეფალექსინის მიმართ 4 (8.1%), ტობრამიცინის მიმართ 13 (26.5%), ოქსაცილინის მიმართ 4 (8.1%) ხოლო ტეტრაციკლინის მიმართ რეზისტენტული იყო 7 შტამი (14.2%). ანტიბიოტიკორეზისტენტული 43 შტამიდან 8 (16.3%) შესაძოა დახასიათებულ იქნას, როგორც მულტირეზისტენტული, ვინაიდან ანტიბიოტიკების 3 ან მეტი კლასის წარმომადგენლის მიმართ ხასიათდებიან რეზისტენტობით.



სქემა 1. ანტიბიოტიკომგრძნობელობის სიხშირე სახვადასხვა ანტიბიოტიკის მიმართ

თავი 8. ბაქტერიოფაგების დახასიათება

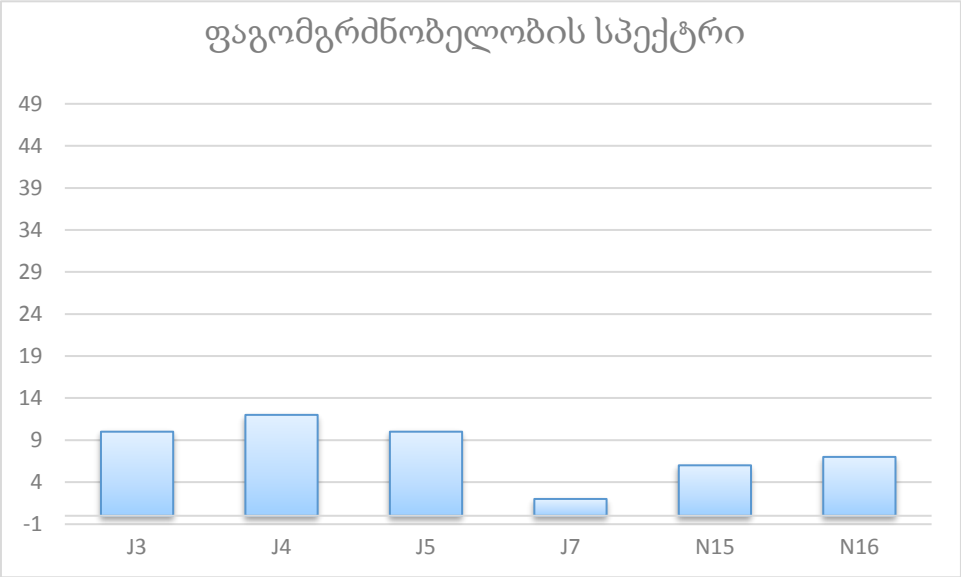
8.1. ფაგების მოქმედების სპექტრის განსაზღვრა

კვლევის ფარგლებში მოხდა გ. ელიავას სახელობის ინსტიტუტის კვევისა და გავნითარების განყოფლიბების ბაზაზე ჩამდინარე წყლიდან ახლად გამოყოფილი 6 ფაგის (J3, J4, J5, J7, N15, N16) მოქმედების სპექტრის შესწავლა S. *aureus* შტამების მიმართ ლაქების მეთოდით. შესწავლილი 49 კლინიკური შტამიდან ისეთი შტამების რაოდენობა, რომლებსაც მინიმალური მგრძნობელობა მინიმუმ ერთ ფაგზე მაინც ჰქონდათ არის 24 (48.9%).

	J3	*J4*	*J5*	*J7*	*N15*	*N16*
S. a. 1.21	1	0	0	0	0	0
S. a. 4.21	1	0	0	0	1	0
S. a. 6.21	0	0	0	0	1	0
S. a. 9.21	2	0	1	0	1	1
S. a. 13.21	2	0	0	1	2	0
S. a. E	1	1	1	0	0	0
S. a. 30	0	4	1	0	0	0
S. a. 32	1	1	1	0	0	0
S. a. 141	0	1	1	0	0	0
S. a. 8388	0	2	0	0	0	0
S. a. 8396	0	0	0	0	1	0

	J3	*J4*	*J5*	*J7*	*N15*	*N16*
S. a. 8417	0	0	0	0	0	1
S. a. 8431	0	4	2	0	0	0
S. a. 8476	0	0	0	0	0	2
S. a. 8497	3	0	0	0	0	0
S. a. 1550	0	1	0	0	0	2
S. a. 1555	0	2	1	0	0	0
S. a. 1564	3	3	1	2	0	2
S. a. 1573	0	2	2	0	0	0
S. a. 1568	0	2	0	0	0	0
S. a. 1586	0	0	0	0	1	1
S. a. 643	1	0	0	0	0	0
S. a. 1725	0	0	1	0	0	0
S. a. 1615	1	1	0	0	0	1

ცხრილი 4. შტრიხების მეთოდით ფაგების მოქმედების სპექტრის შესწავლის შედეგები



სქემა 2. S. *aureus* შტამების მიმართ ფაგების მოქმედების სპექტრი

ანტიბიოტიკომგრძნობელობის ტესტის შედეგად გამოვლენილ 49 შტამს შორის ანტიბიოტიკორეზისტენტობა 43-ში (87,8%) გამოვლინდა. მათ შორის 43-დან 21 (48.8%) ავლენდა მგრძნობელობას მინიმუმ 1 და მაქსიმუმ 6 ფაგის მიმართ. ფაგმომგრძნობელობის ექსპერიმენტი ჩატარდა შემთხვევით შერჩეულ შტამებზე, რომელთა შორის იყო როგორც მულტირეზისტენტული, ასევე სრულად სენსიტიური შტამებიც. შესაბამისად მიღებული შედეგები არ ფაგების ეფექტურობის სრულყოფილი შეფასების საშუალებას არ გვაძლევს. თუმცა ყურადღებას იქცევს რამდენიმე მაგალითი, კერძოდ მულტირეზისტენტული შტამები: *S. aureus* 1.21, 9.21, 8388, 8431, 1550 და 1555 ავლენენ მგრძნობელობას ერთი ან რამდენიმე ფაგის (მაქსიმუმ 4-ის) მიმართ. ეს ფაქტები ფაგების ეფექტურობის ილუსტრირებას ახდენს და თერაპიული თვალსაზრისით დამაიმედებელი შედეგია.

შესწავლილი ბაქტერიოფაგებიდან მოქმედების ყველაზე ფართო სპქტრით გამოირჩევა J4 ფაგი, რომელის მიმართაც 12 შტამმა (24,4%) (მხოლოდ ბერძნული შტამები) გამოავლინა მგრძნობელობა, საიდანაც მხოლოდ 1 ბაქტერიული შტამი არ ავლენდა არცერთი ანტიბიოტიკების მიმართ რეზისტენტობას. აღსანიშნავია, რომ J4 ფაგის მიმართ მგრძნობელობით ხასიათდება ანტიბიოტიკების მიმართ 3 მულტირეზისტენტული შტამი. J4 ფაგის მიმართ სენსიტიური 11 ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამიდან მაღალი მგრძნობელობით გამოირჩევოდა 3, ხოლო 8 შტამს ფაგის მიმართ შედარებით დაბალი მგრძნობელობა ახასიათებდათ.

შტრიხების მეთოდის შედეგებზე დაყრდნობით, შემდგომი კვლევებისთვის ამორჩეულ იქნა J4 ფაგი, ანტიბიოტიკორეზისტენტულ შტამებზე სხვა ფაგებთან შედარებით, მაღალი აქტივობის გამო.

8.2. დათესვის ეფექტურობა

J4 ფაგის დათესვის ეფექტურობის შესასწავლად არჩეულ იქნა 3 ანტიბიოტიკო რეზისტენტული შტამი, რომლებიც მაღალი მგრძნობელობით გამოირჩეოდნენ აღნიშნული ფაგის მიმართ. ესნია S. a. 1564, S. a. 8431 და S. a. 30.

სამი საკვლევი შტამის J4 ფაგთან ერთად გრაციას მეთოდით დატანის შედეგად ყველაზე მაღალი ტიტრი წარმოდგენილი იყო პეტრზე, სადაც საკლვევი ფაგი დატანილი იყო S. a. 1564 შტამთან ერთად.

დათესვის ეფექტურობა გამოითვლება ფორმულით:

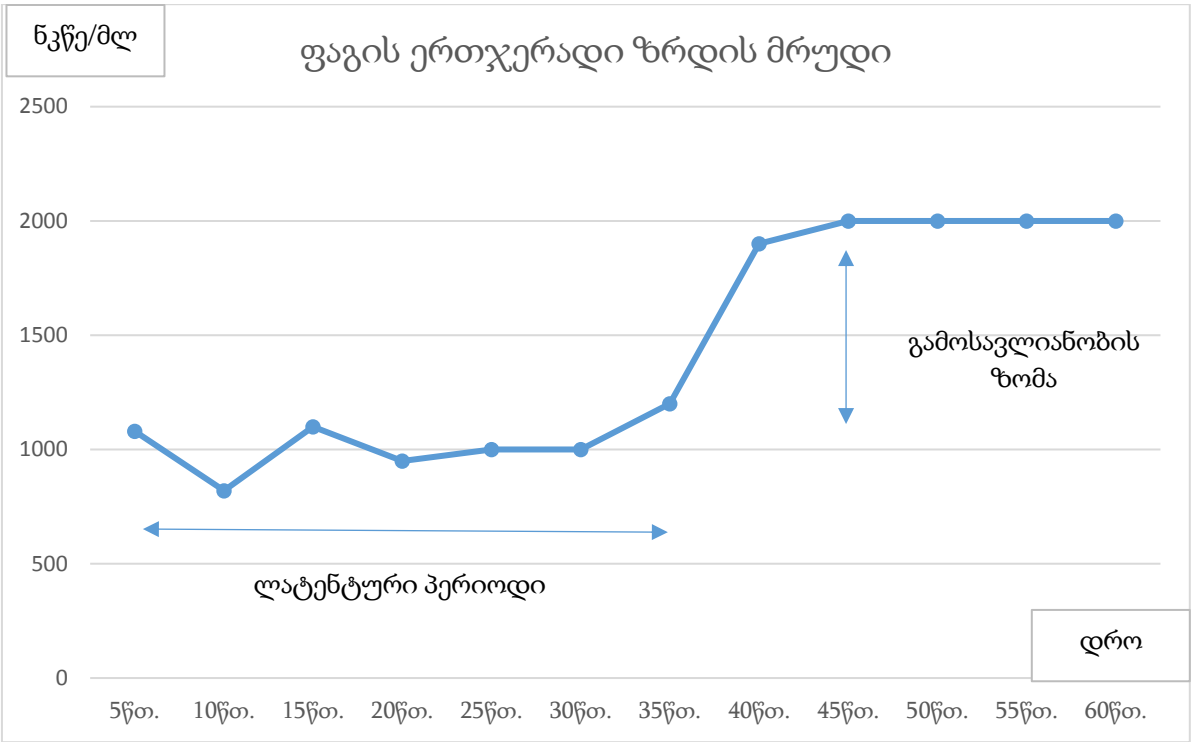
$$E=T/T_0$$

E არის დათესვის ეფექტურობა, T - საკვლევი ბაქტერიული შტამის მიმართ ფაგის ტიტრი, T_0 - ფაგის ტიტრი პატრონი ბაქტერიული უჯრედული შტამის მიმართ.

მონაცემების დამუშავებამ გვიჩვენა რომ J4 ფაგის S. a. 1564 შტამთან დათესვის ეფექტურობა ნაკლებია 1-ზე, რაც ნიშნავს, როვ საკვლები ბაქტერიული შტამი ფაგის უფრო ნაკლებ გამოსავლიანობას იძლევა ვიდრე მისი პატრონი შტამი.

8.3. ბაქტერიოფაგის ერთჯერადი გამრავლების ციკლი

ბაქტერიოფაგის პატრონ უჯრედზე ადსორბციის ცდამ გვიჩვენა, რომ ფაგური ნაწილაკების მაქსიმალური ადსორბცია ხდება 6 წუთზე.



გრაფიკი 1.

გრაფიკი 1 გვიჩვენებს , რომ ფაგის ლატენტური პერიოდი გრძელდება 35 წუთის განმავლობაში, რასაც მოსდევს ე.წ. ზრდის ფაზა, რომელიც 10 წუთის განმავლობაში მიმდინარეობს, რის შემდეგაც 45 წუთიდან იწყება ე.წ. პლატო. აღნიშნული ფაგის გამოსავლიანობა ერთ ინფიცირებულ უჯრედზე 320 ფაგურ ნაწილაკს შეადგენს.

დასკვნები

1. შესწავლილი შტამების 87.75% რეზისტენტულია თუნდაც ერთი ანტიბიოტიკის მიმართ. ხოლო რეზისტენტულ შტამებს შორის 65% რეზისტენტულია 2-დან 7-მდე კლასის ანტიბიოტიკის მიმართ, შესაბამისად ისინი მულტირეზისტენტულ შტამებს წარმოადგენენ.
2. შესწავლილი შტამის 48,8%, მათ შორის მულტირეზისტენტული შტამებიც, სენსიტიურია გამოყენებული ფაგებიდან მინიმუმ 1-ის და მაქსიმუმ 6-ის მიმართ,
3. ფაგები ერთანირად ეფექტრუნი არიან როგორც მულტირეზისტენტული, ასევე ანტიბიოტიკებისადმი მრძნობიარე შტამების მიმართ.
4. დახასიათებული ფაგის გამოსავლიანობა მის ვირულენტურ ბუნებაზე მიუთითებს.

გამოყენებული ლიტერატურის სია

1. მაკალათია, ხ. (2020). *მულტირეზისტენტული Salmonella spp. - ს სპეციფიური ბაქტერიოფაგების.* თბილისი. მოპოვებული https://tsu.ge/assets/media/files/shares/test%20folder/zustebi/Biblioteka/sadoqtoro_naSromebi/PHD-%E1%83%9B%E1%83%90%E1%83%99%E1%83%90%E1%83%9A%E1%83%90%E1%83%97%E1%83%98%E1%83%90%20%E1%83%AE%E1%83%90%E1%83%97%E1%83%A3%E1%83%9C%E1%83%90.pdf-დან

2. Aryal, S. (2022 წლის 13 June). *Mannitol Salt Agar for the isolation of Staphylococcus aureus*. მოპოვებული Microbiology Info.org: https://microbiologyinfo.com/mannitol-salt-agar-for-the-isolation-of-staphylococcus-aureus/-დან

3. Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., & Meier, C. (2004). Development and Evaluation of a Quality-Controlled Ribosomal Sequence Database for 16S Ribosomal DNA-Based Identification of Staphylococcus Species. *Journal of Clinical Microbiology*, 4988–4995. doi:10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004

4. Bruckner, M. Z. (2021). *Microbial Life Educational Resources*. მოპოვებული Microbial Life Educational Resources: https://serc.carleton.edu/microbelife/research_methods/microscopy/gramstain.html-დან

5. C. J. L. Murray et al., 2. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019:. *Lancet*, 629-655. doi:https://doi.org/10.1016/

6. Chanishvili, N. (2016). Bacteriophages as Therapeutic and Prophylactic Means: Summary of the Soviet and Post Soviet Experiences. *Current drug delivery*, 309-323. doi:10.2174/1567201813031605201939 46

7. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Performance Standards for Antimicrobial.* მოპოვებული CLSI: https://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf-დან

8. Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*. doi:doi.org/10.33500/ijambr.2016.04.011

9. Gelman, D., Eisenkraft, A., Chanishvili, N., Nachman, D., Coppenhagem, S. G., & Hazan, R. (2018 წლის July). The history and promising future of phage therapy in the military service. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, S18-S26. doi:10.1097/TA.0000000000001809

10. Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology*, 72-80. doi:https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008

11. Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2019). *Medical Microbiology.* New York: McGraw Hill Medical.

12. Kluytmans, J., Belkum, A. V., & Verbrugh, H. (1997). Nasal Carriage of Staphylococcus aureus: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clinical Microbiology Reviews*, 505-520. doi:10.1128/CMR.10.3.505

13. Kong, C., Neoh, H.-m., & Nathan, S. (2016). Targeting Staphylococcus aureus Toxins: A Potential form of Anti-Virulence Therapy. *Toxins*, 1-4. doi:https://doi.org/10.3390/toxins8030072

14. Kurowska, A. (2020). *Characterization and genomic analysis of Staphylococcus aureus.* Tbilisi.

15. Kutter, E., & Sulakvelidze, A. (2004). *Bacteriophages Biology and Applications.* CRC Press, 2000 N.W. Corporate Blvd., Boca Raton, Florida 33431.

16. Licitra, G. (2013). Etymologia: Staphylococcus. *Emerging Infectious Diseases*, 1553. doi:10.3201/eid1909.ET1909

17. Mourabit, N., Arakrak, A., Bakkali, M., & Zian, Z. (2021 წლის May). Antimicrobial Resistance Trends in Staphylococcus aureus Strains Carried by Poultry in North of Morocco: A Preliminary Analysis. *Journal of Food Quality*, 1-5. doi:10.1155/2021/8856004

18. Rasigade, J. P., Dumitrescu, O., & Lina, G. (2014). New epidemiology of Staphylococcus aureus infections. *Clinical Microbiology And Infection*, 587-588. doi:10.1111/1469-0691.12718

19. Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2022). *Staphylococcus Aureus.* StatPearls Publishing LLC.

20. Tong, S. Y., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 603-612. doi:10.1128/CMR.00134-14

21. Vandenesch, F., Lina, G., & Henry, T. (2012). Staphylococcus aureus hemolysins, bi-component leukocidins, and cytolytic peptides: a redundant arsenal of membrane-damaging virulence factors? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 1-14. doi:doi.org/10.3389/fcimb.2012.00012

22. *World Health Organization*. (2020 წლის 31 July). მოპოვებული WHO: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance-დან